



Systeme Immunitaire et Microbiote:

L'effet du Microbiote sur l'efficacite Vaccinale

Selim BADUR, PhD
Scientific Affairs & Public Health Director-EM
GlaxoSmithKline Vaccines, Wavre-Belgium

Paris, Avril 2018

Agenda

- Pourquoi ce sujet?
- Le monde du microorganisme
- Le microbiote:
 - La définition, la détection, la localisation, la composition ...
 - Le rôle dans différentes pathologies
 - Les métabolites: leur relation avec le système immunitaire
 - Son influence sur l'immunité innée & adaptative
 - Son importance en vaccinologie

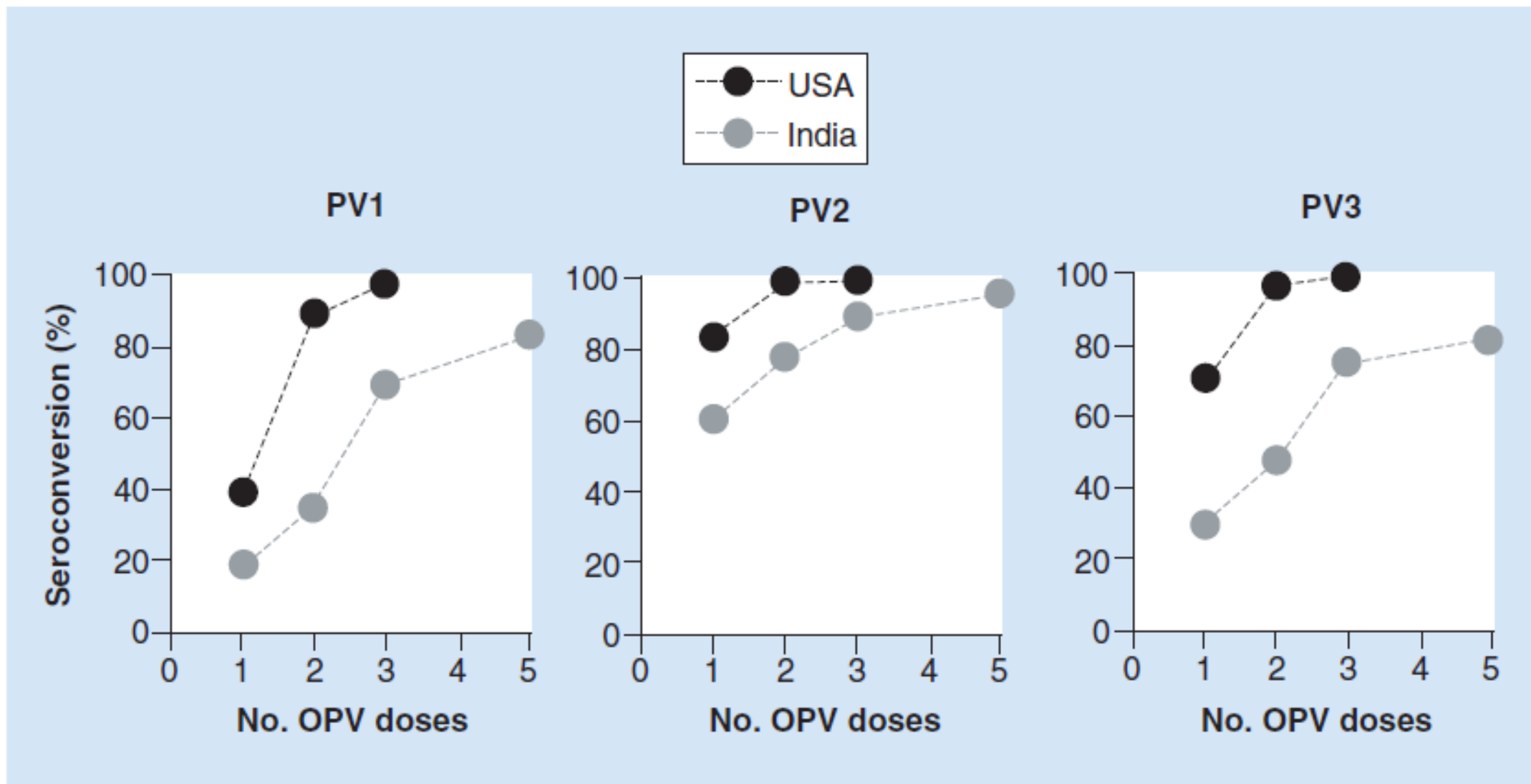
Les mécanismes qui conduisent à une faible réponse vaccinale

* Les facteurs génétiques et environnementaux

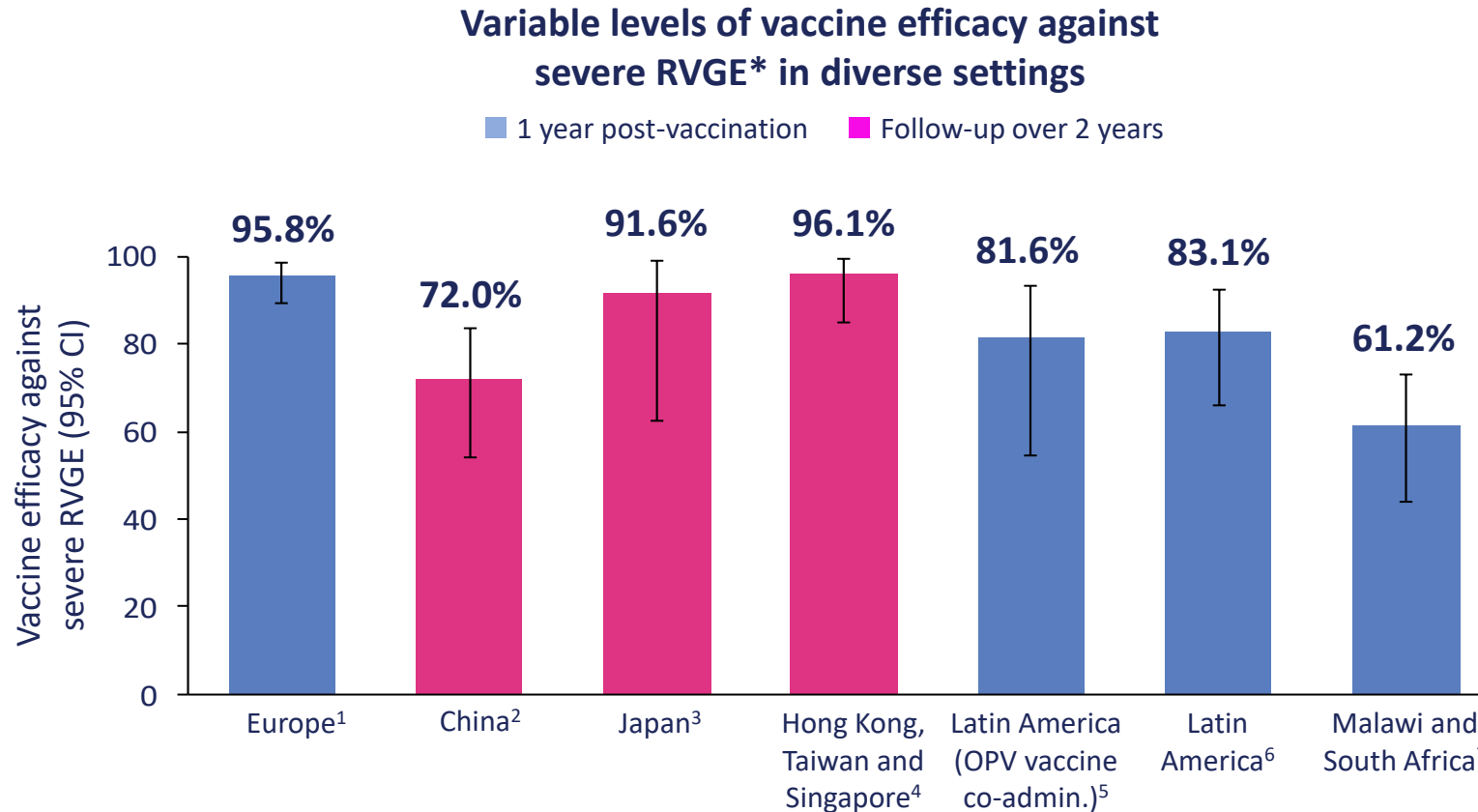
- Le génétique: haplotypes HLA spécifiques (susceptibilité familiale entière)
- Les paramètres environnementaux et physiques: âge, sexe, tabagisme...
- Le statut de la santé:
 - * Thérapie immunosuppressive,
 - * Maladie coeliaque, etc...
 - * Infections chroniques..

*** Des découvertes récentes suggèrent que la composition de MICROBIOTE pourrait aussi affecter l'EFFICACITÉ VACCINALE**

L'immunogénité du OPV aux Etats-Unis et l'Inde



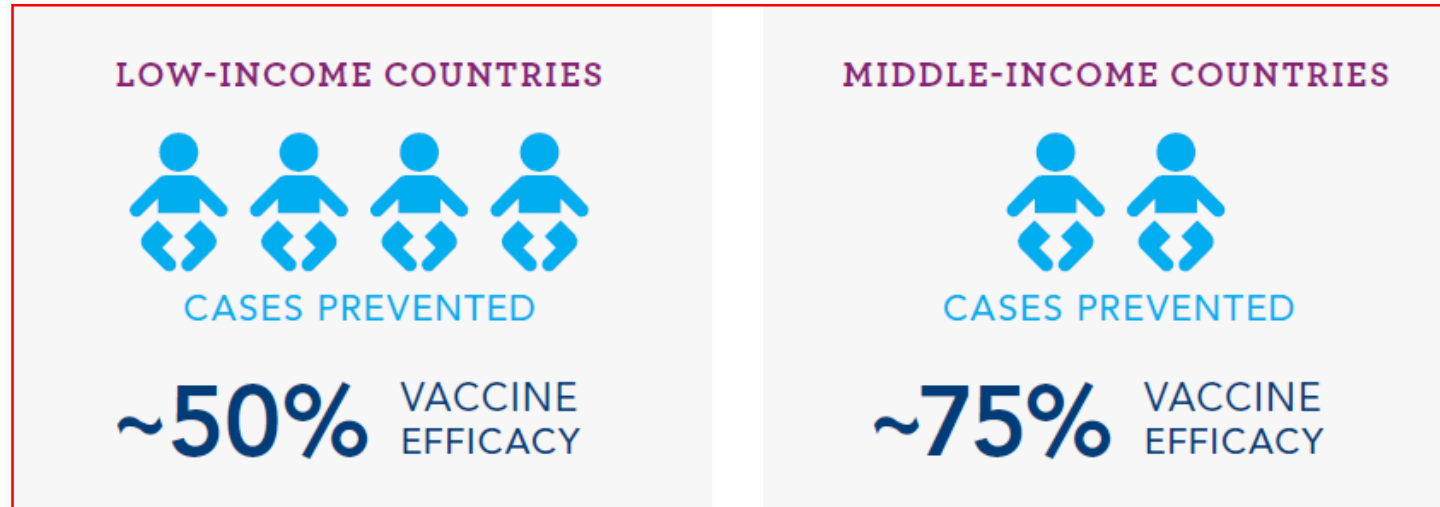
Malgré leur impact, les VRV sont significativement moins efficaces chez les enfants vivant dans les pays pauvres



*Severe RVGE defined as ≥ 11 on the Vesikari scale (requiring hospitalisation and/or rehydration therapy at a medical facility).

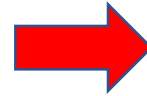
1. Vesikari, et al. *Lancet* 2007; **370**: 1757–63;
2. Li, et al. *Hum Vacc Immunotherapy* 2014; **10**: 11–18;
3. Kawamura, et al. *Vaccine* 2011; **29**: 6335–41;
4. Phua, et al. *Vaccine* 2009; **27**: 5936–41;
5. Tregnaghi, et al. *Pediatr Infect Dis J* 2011; **30**: e103–8;
6. Linhares, et al. *Lancet* 2008; **371**: 1181–9;
7. Madhi, et al. *N Engl J Med* 2010; **362**: 289–98.

Les enfants de différentes parties du monde peuvent montrer différentes réponses immunitaires au même vaccin



- L'exposition antérieure et persistante à des microorganismes apparentés
- Les infections endémiques telles que le paludisme, la tuberculose ou le VIH ...
- Les titres d'IgG élevés avant la vaccination
- Le co-administration des vaccins oraux
- Les anticorps maternels (IgA et IgG)
- Les carences en micronutriments
- Et LE MICROBIOTE

- L'âge de la terre: 4,5 milliards d'années
- L'âge des microorganismes: 3,7 milliards d'années
- Ils ont vécu seuls pendant longtemps (~3 milliards d'années)
- Ils «connaissent» ...



Microorganismes:

- un taux d'évolution relativement rapide
- une grande capacité de mutation
- Une reproduction rapide
- Une capacité d'échanger librement des gènes
- Une capacité d'adaptation élevée: survie dans de nouveaux environnements
- Les créatures indispensables pour l'écosystème

La cohabitation d'organismes différents ... (1879 et 1967)



Antone de Bary
(1831-1888)

- **La symbiose** est un type d'interaction biologique étroit et à long terme entre deux organismes différents
- Peut être sous forme de: mutualisme, commensalisme ou parasitisme
- **La dysbiose** est un terme pour un déséquilibre microbien ou une mauvaise adaptation

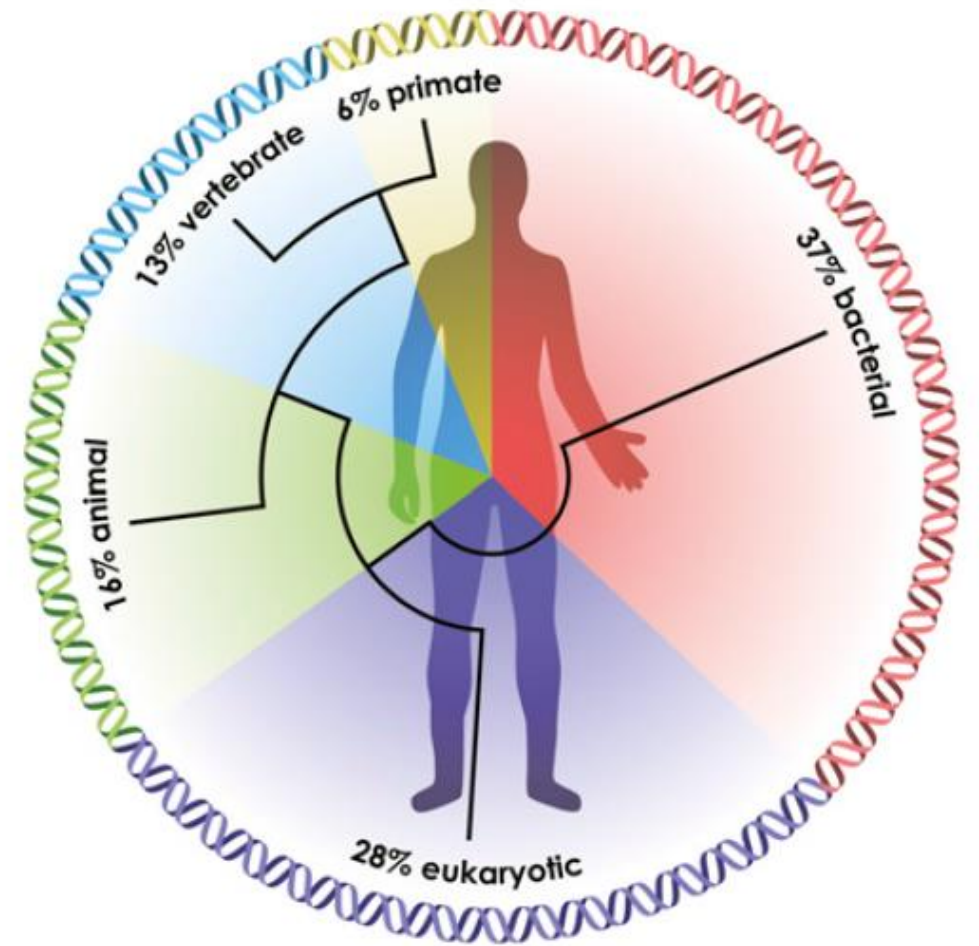


Lynn Margulis
(1938-2011)

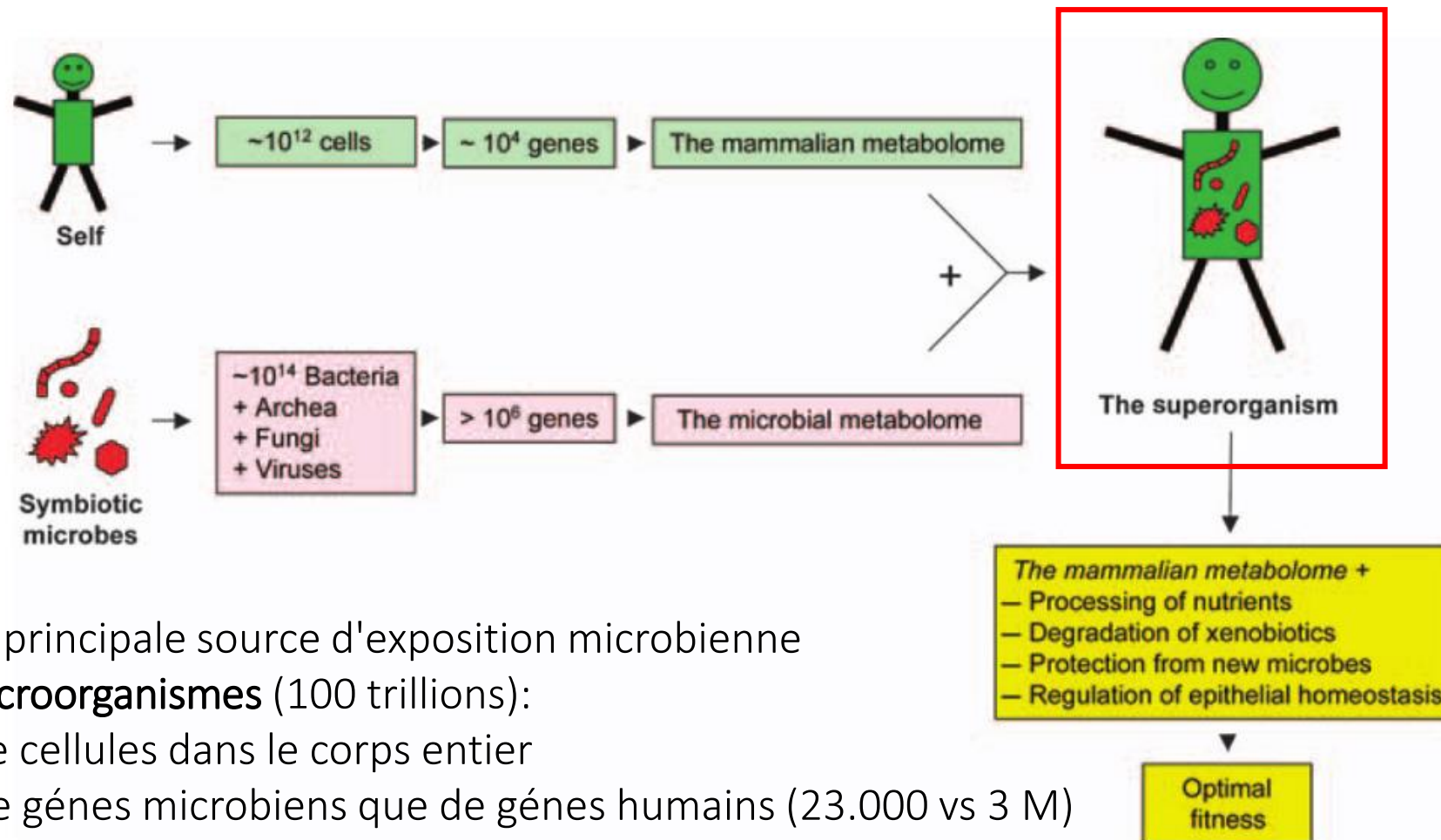
- L'article théorique intitulé *The Origin of Mitosing Eukaryotic Cells*, expliquant comment les interactions symbiotiques entre organismes provenant souvent de différents phyla ou règne sont le moteur de **l'évolution**
- Finalement accepté par *Journal of Theoretical Biology*, il est aujourd'hui considéré comme un repère dans **la théorie endosymbiotique moderne** (1967)

Qui sommes nous?

- Le corps humain a plus de cellules microbiennes que de cellules humaines
- Plus de 10.000 espèces microbiennes ont été identifiées comme vivant dans les corps humains jusqu'à présent
- Environ 91% des cellules de notre corps sont des cellules microbiennes non humaines
- **Le microbiote: l'ensemble des microorganismes vivant dans un environnement spécifique**
- Le microbiote nous façonne, nous contrôle et nous entretient de multiple façons. Nous sommes pour lui une «machine à survie» !



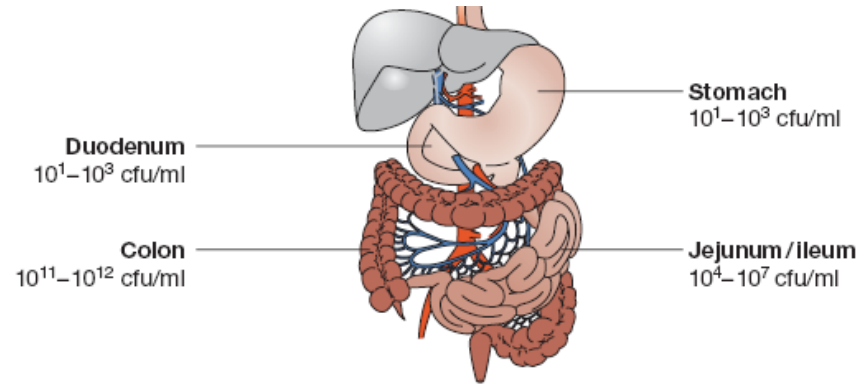
Une histoire vraie à propos de nous et des milliards de nos amis les plus proches



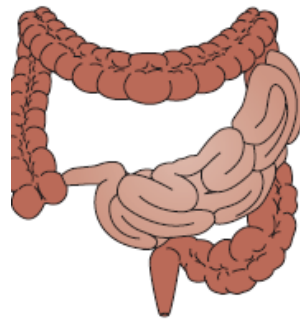
- Le microbiote est la principale source d'exposition microbienne comprenant **10^{14} microorganismes** (100 trillions):
- **10 fois** le nombre de cellules dans le corps entier
- **100 -150 fois** plus de gènes microbiens que de gènes humains (23.000 vs 3 M)
- L'hôte et son microbiote seraient un **SUPERORGANISME**, composé de plusieurs organismes complémentaires vivant en SYMBIOSE

The gut flora as a forgotten organ

Ann M. O'Hara¹ & Fergus Shanahan^{1,2+}

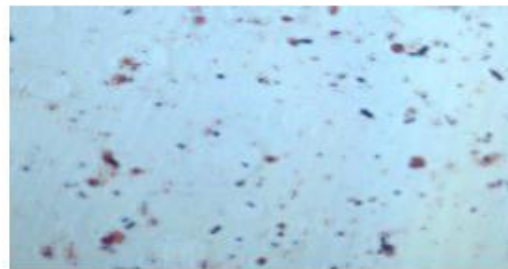
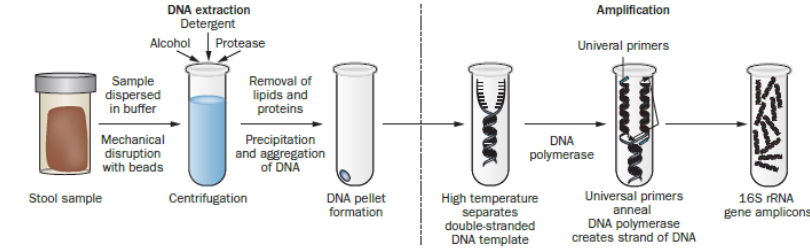
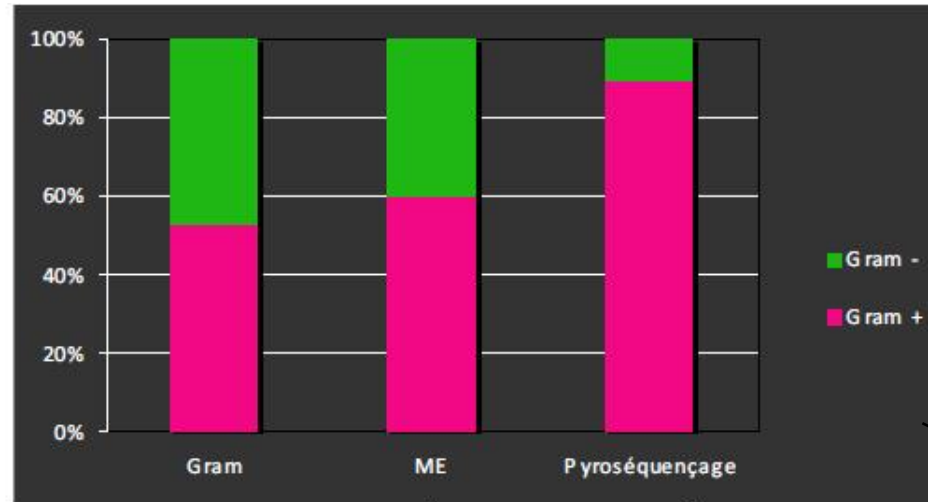


Anaerobic genera	Aerobic genera
<i>Bifidobacterium</i>	<i>Escherichia</i>
<i>Clostridium</i>	<i>Enterococcus</i>
<i>Bacteroides</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>Eubacterium</i>	<i>Klebsiella</i>



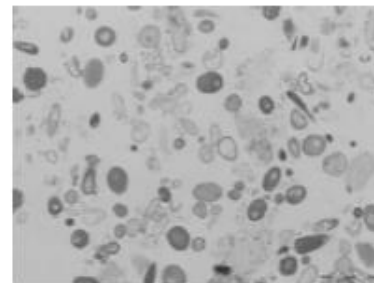
Protective functions	Structural functions	Metabolic functions
<ul style="list-style-type: none"> Pathogen displacement Nutrient competition Receptor competition Production of anti-microbial factors e.g., bacteriocins, lactic acids 	<ul style="list-style-type: none"> Barrier fortification Induction of IgA Apical tightening of tight junctions Immune system development 	<ul style="list-style-type: none"> Control IEC differentiation and proliferation Metabolize dietary carcinogens Synthesize vitamins e.g., biotin, folate Ferment non-digestible dietary residue and endogenous epithelial-derived mucus Ion absorption Salvage of energy
<p>Commensal bacteria</p>	<p>IgA</p>	<p>Short-chain fatty acids</p> <p>Mg²⁺ Ca²⁺ Fe²⁺</p> <p>Vitamin K Biotin Folate</p>

Les Techniques utilisés pour la détection des membres du Microbiote



Gram staining (x100 oil immersion)

53% bacteria Gram-positive
47% bacteria Gram-negative



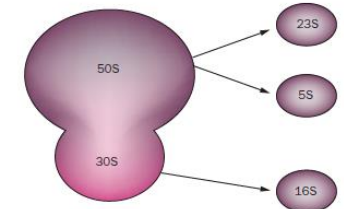
Electron microscopy (x7100)

60% bacteria Gram-positive
40% bacteria Gram-negative

Phylum	Reads	%
<i>Firmicutes</i>	44769	71.12
<i>Actinobacteria</i>	5797	9.21
<i>Other</i>	6627	10.53
<i>Bacteroidetes</i>	3983	6.33
<i>Proteobacteria</i>	1747	2.78
<i>Cyanobacteria</i>	21	0.03
<i>Verrucomicrobia</i>	4	0.01
<i>Total</i>	62948	100

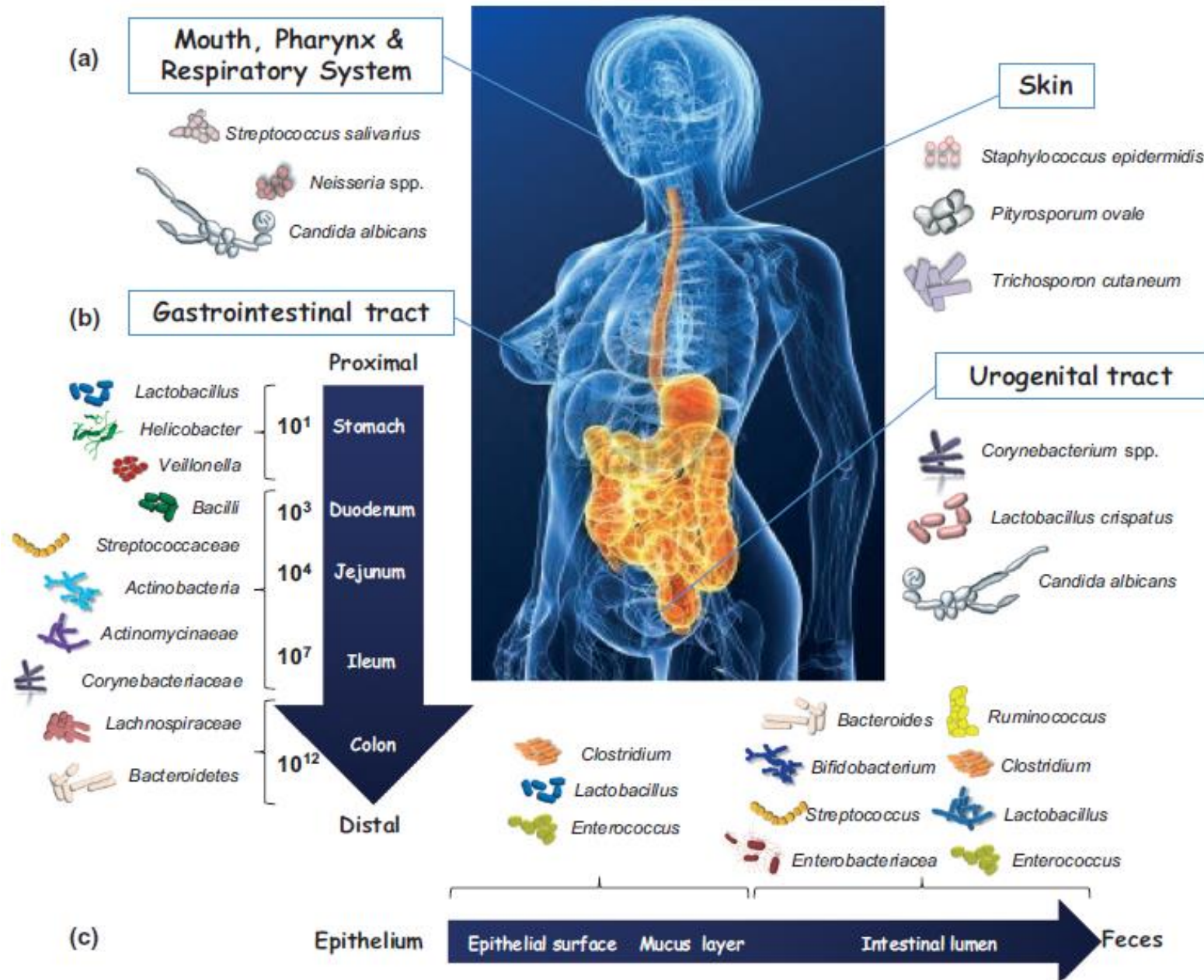
Pyrosequencing

80% bacteria Gram-positive
9% bacteria Gram-negative
11% not available



La technique d'identification sur la base du séquençage des gènes codant les ARNr 16S

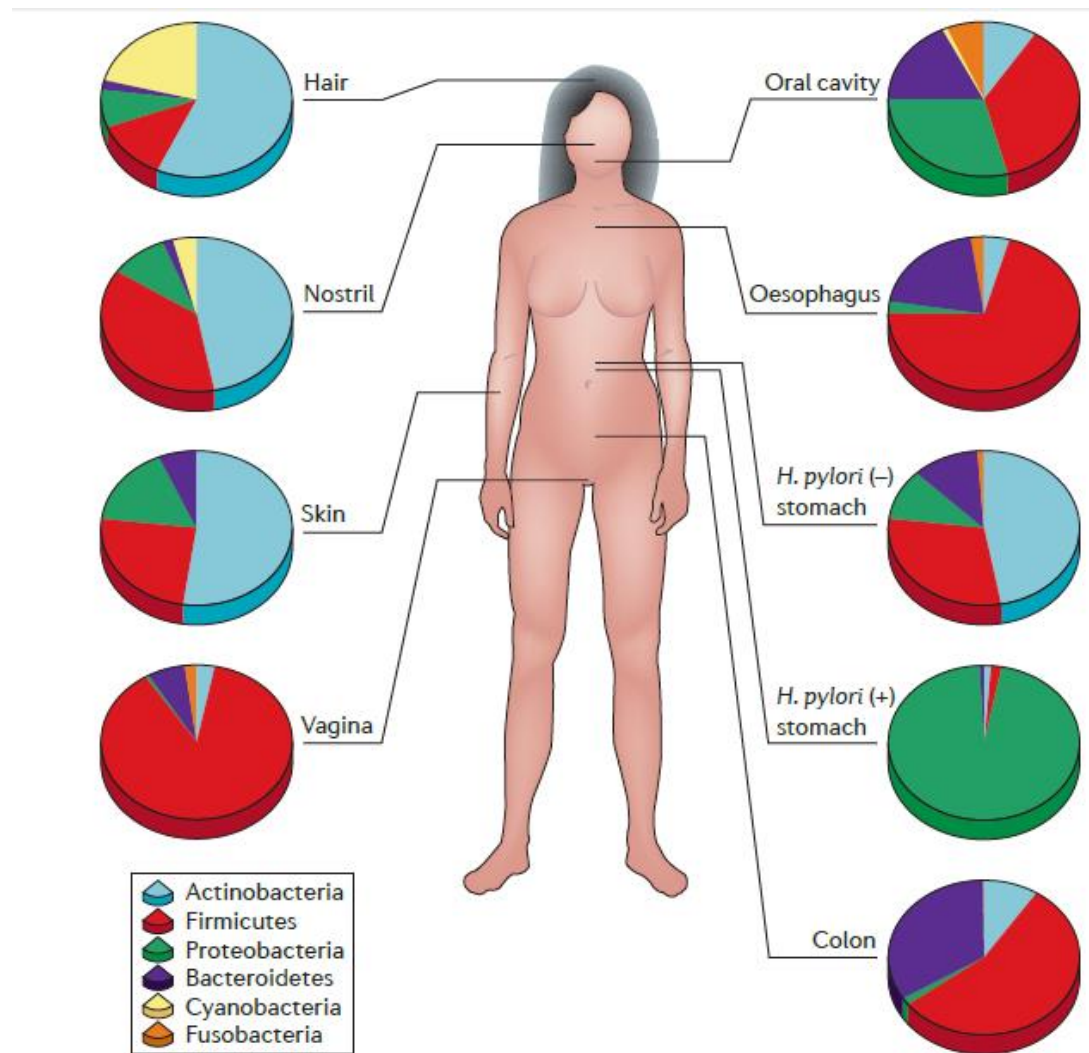
Seulement <30% des membres du microbiome sont détectés avec les techniques de culture



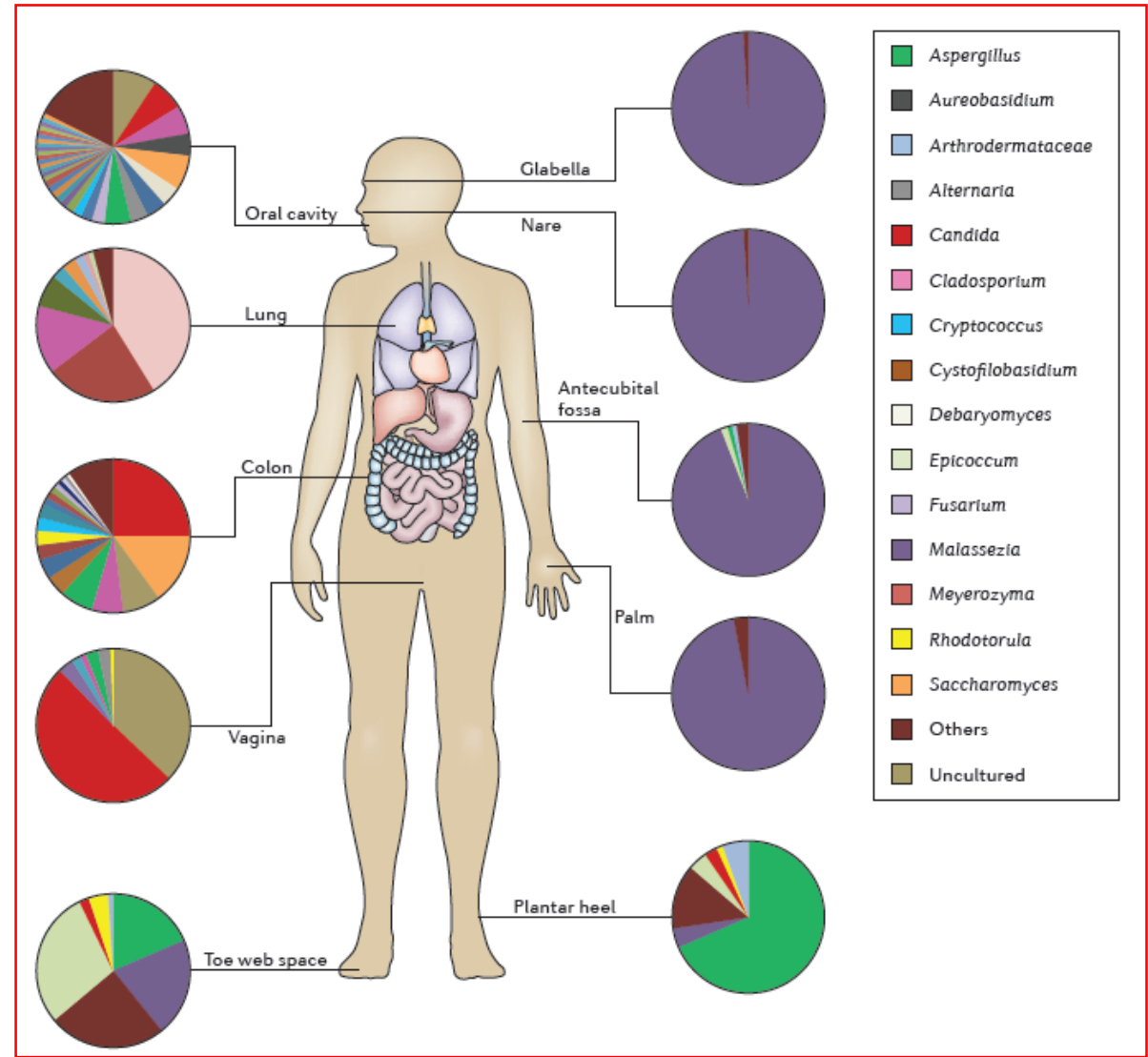
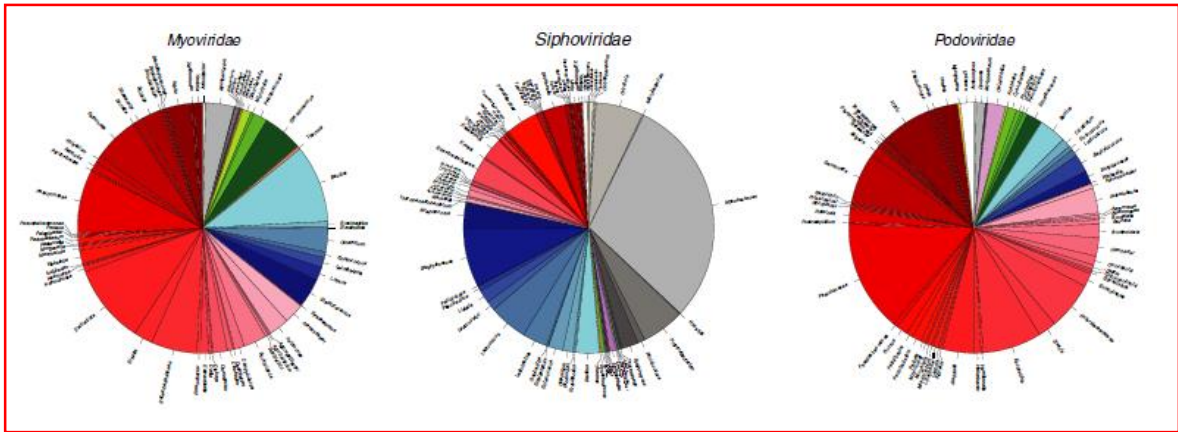
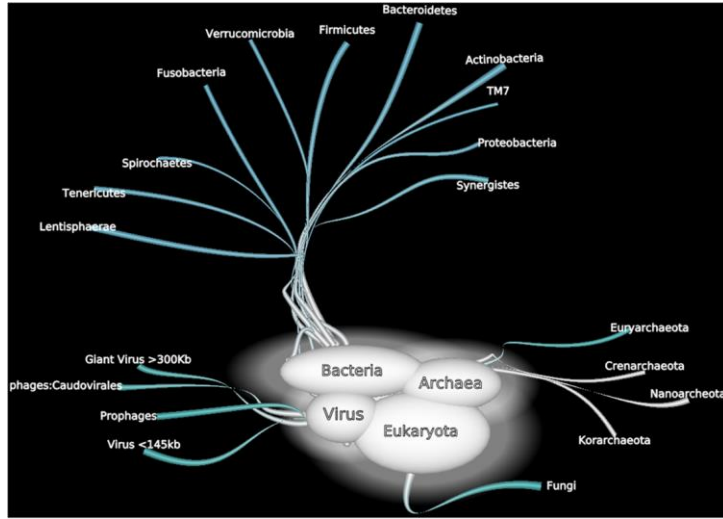
Les espèces bactériennes qui constituent le microbiote appartiennent à 4 grandes groupes phylogénétiques:

- **Les firmicutes**
- **Les bacteroidetes**
- **Les actinobacterias**
- **Les proteobacterias**

Alors que la majorité de ces microbiotes existent dans le tractus intestinal, il y a des microbes dans d'autres régions ...

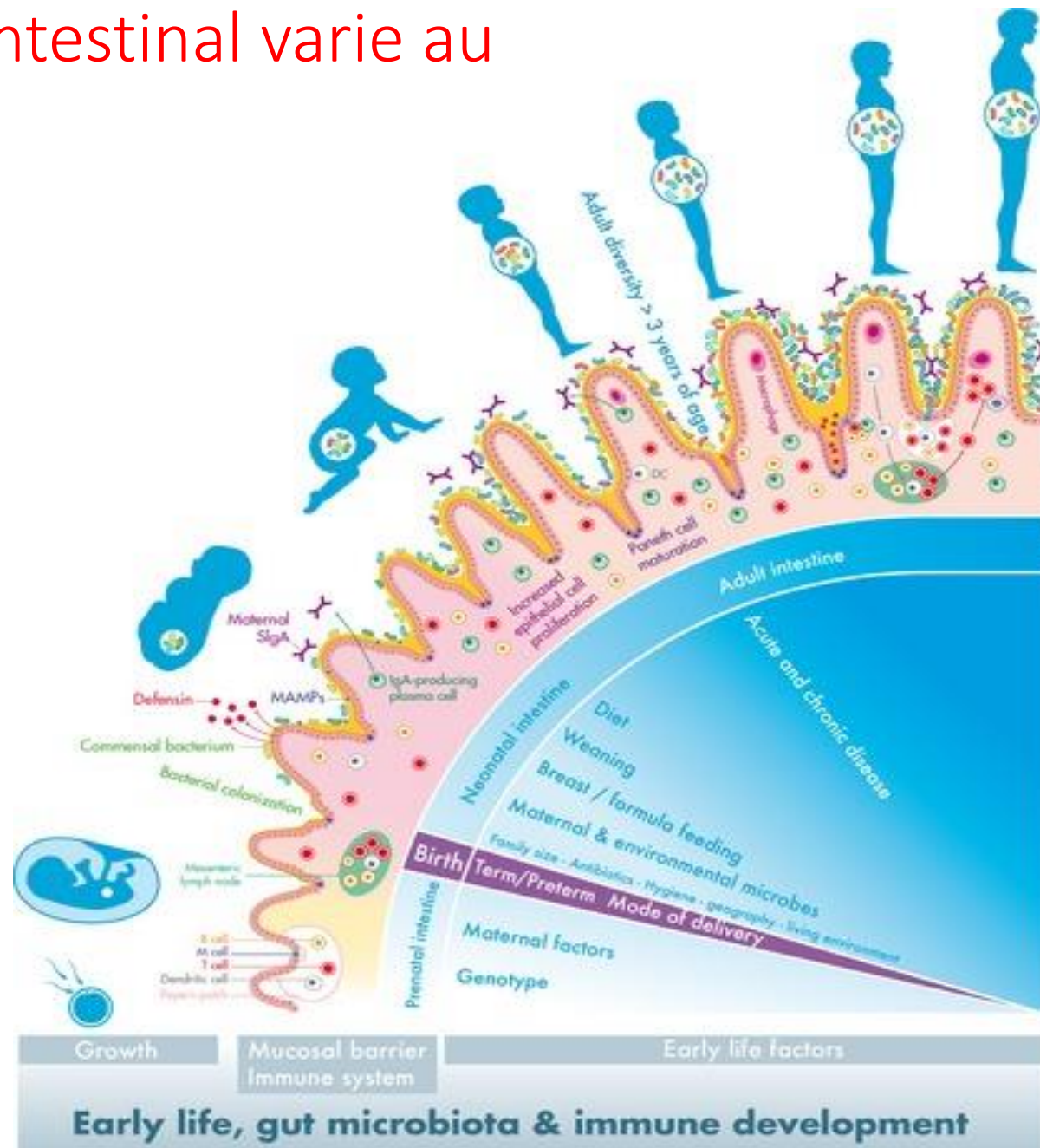


Il y a aussi un vaste virome et un mycobiome qui sont moins bien caractérisés



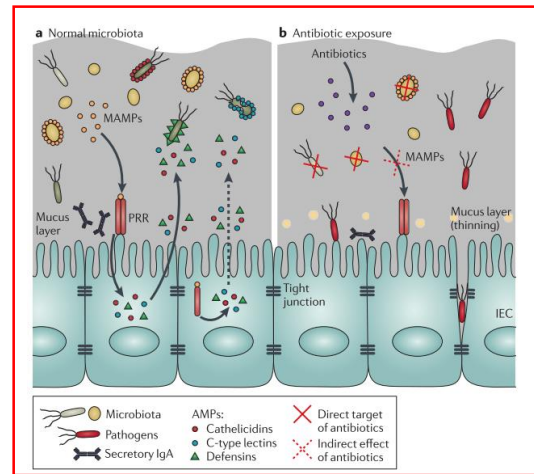
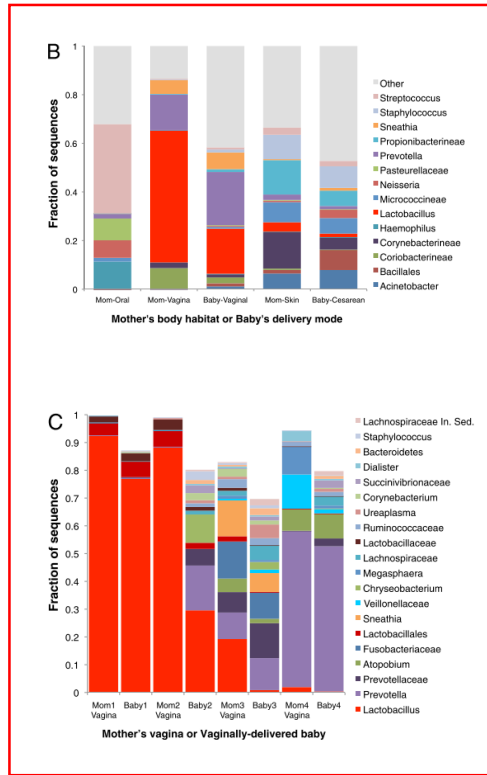
La composition du microbiote intestinal varie au cours du temps

- Le mode de l'accouchement, d'allaitement, l'environnement, la prise éventuelle des médicaments puis la diversification alimentaire **influencent la colonisation bactérienne chez le nourrisson**



Causes proposées de dysbiose du microbiote:

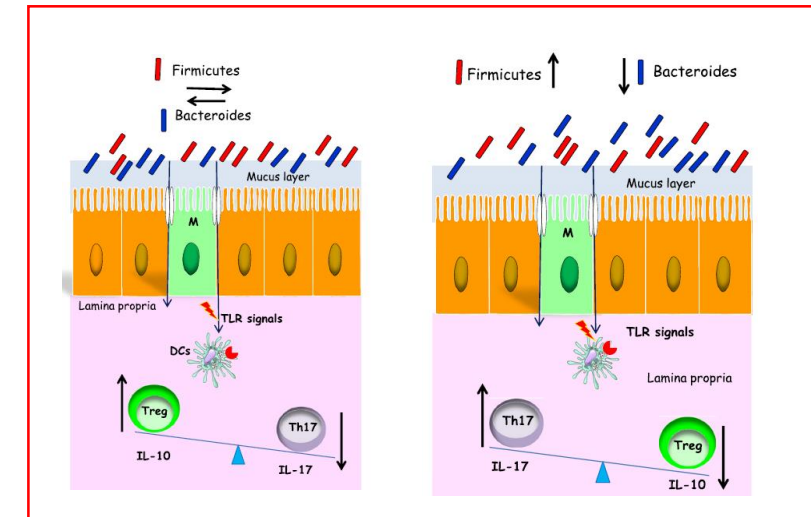
La composition peut varier transitoirement au cours de la vie en fonction des conditions extérieures



Utilisation d'antibiotiques



Style de vie: Diète, stress

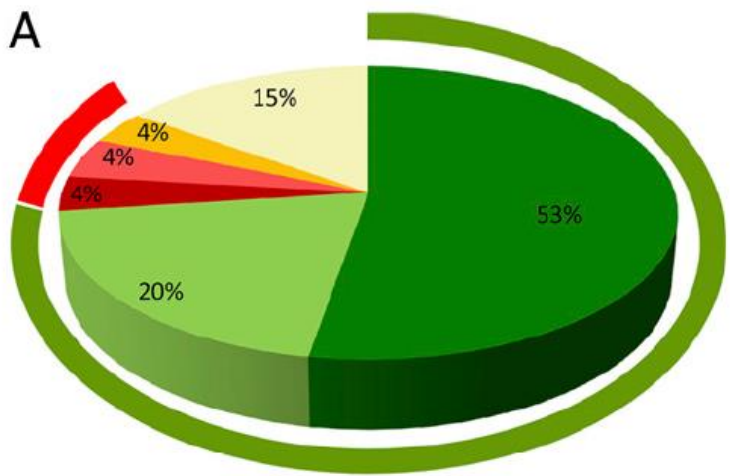


Age

Mode de l'accouchement (naissance à l'hôpital, césarienne, exposition altérée aux microbes)

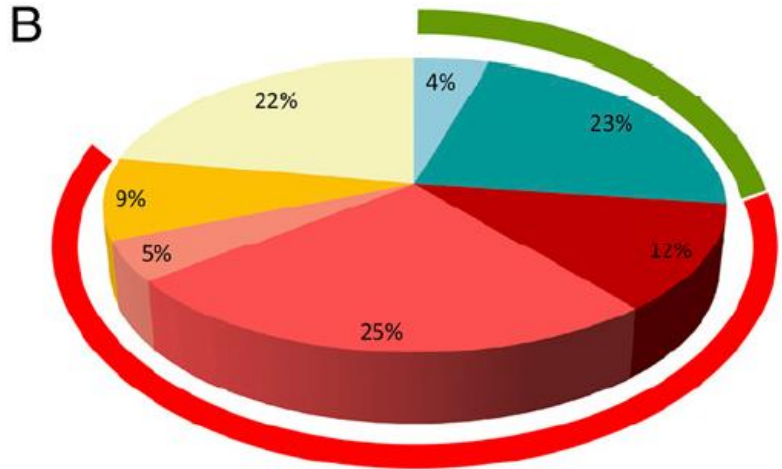
Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa

Carlotta De Filippo^a, Duccio Cavalieri^a, Monica Di Paola^b, Matteo Ramazzotti^c, Jean Baptiste Poullet^d, Sebastien Massart^d, Silvia Collini^b, Giuseppe Pieraccini^e, and Paolo Lionetti^{b,1}



BF

- Prevotella } Bacteroidetes
- Xylanibacter } Bacteroidetes
- Acetitomaculum } Firmicutes
- Faecalibacterium } Firmicutes
- Subdoligranulum } Firmicutes
- Others



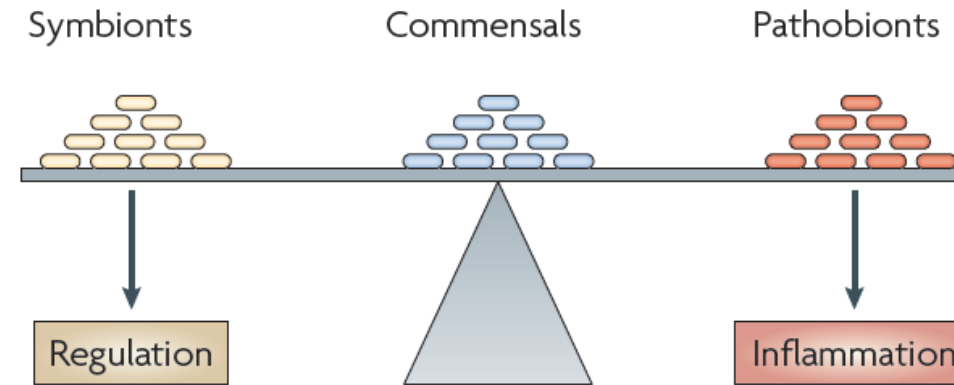
EU

- Alistipes } Bacteroidetes
- Bacteroides } Bacteroidetes
- Acetitomaculum } Firmicutes
- Faecalibacterium } Firmicutes
- Roseburia } Firmicutes
- Subdoligranulum } Firmicutes
- Others

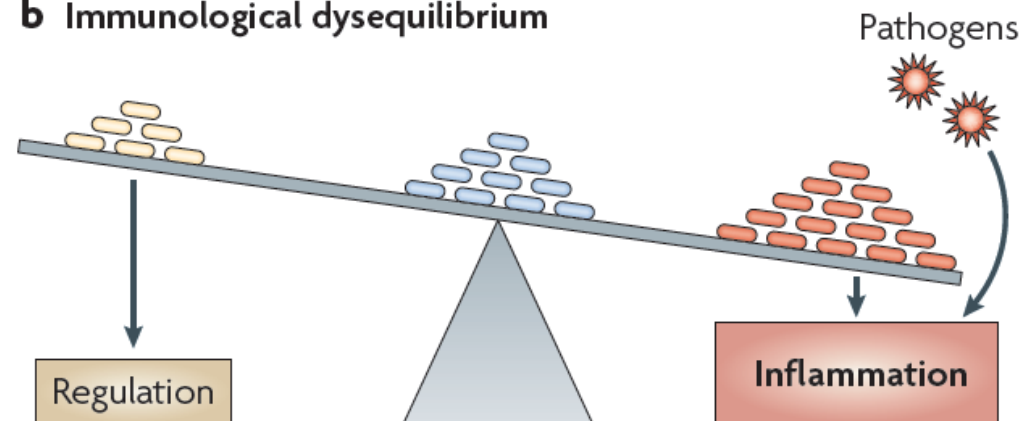


Le microbiote intestinal: ami ou ennemi?

a Immunological equilibrium

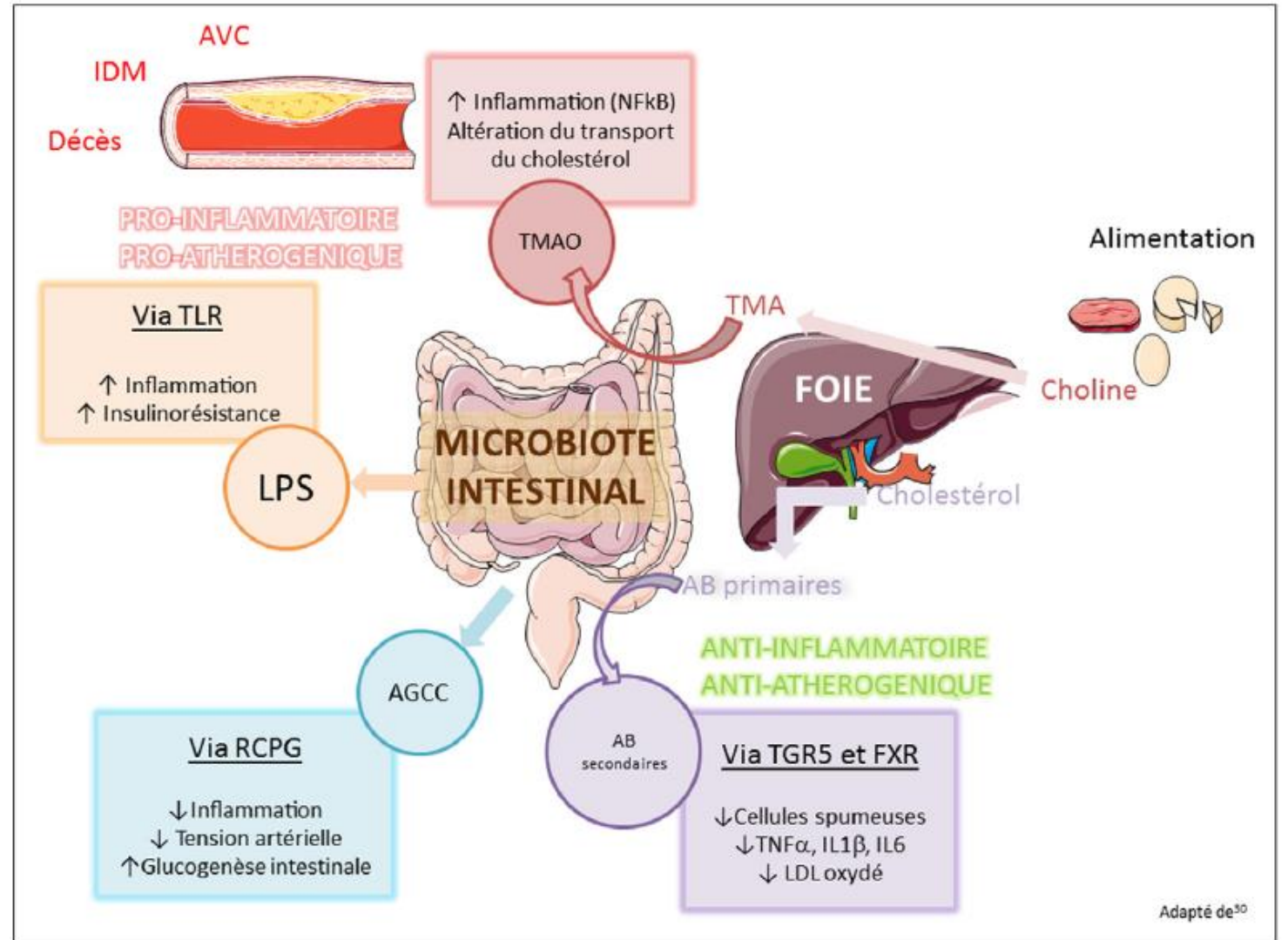


b Immunological dysequilibrium



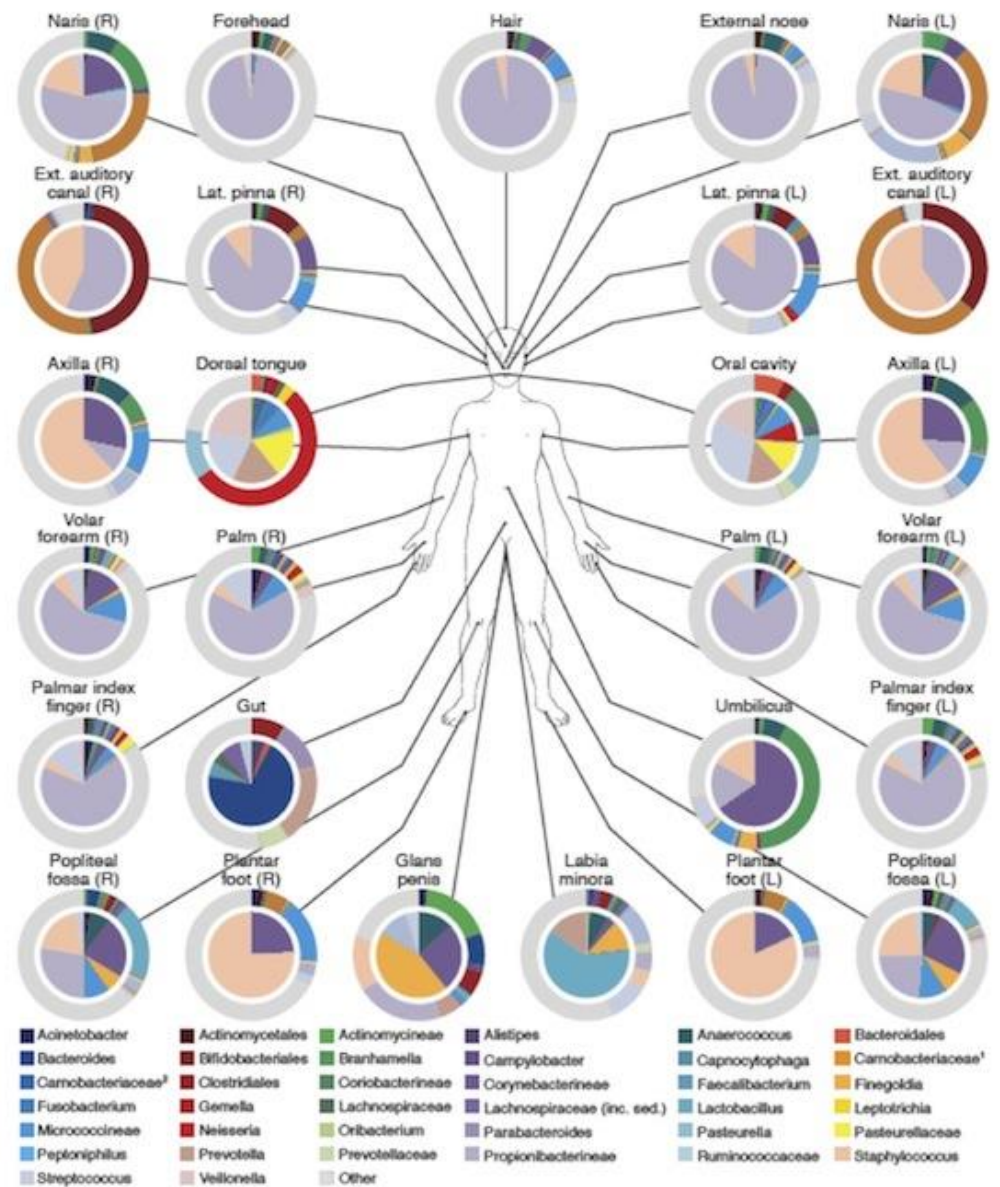
UNE DYSBIOSE peut résulter de l'excès de microorganismes délétères et/ou de l'insuffisance de microorganismes bénéfiques de l'hôte.

- Au cours du siècle dernier, nous avons assisté à l'émergence d'un grand nombre de **maladies multifactorielles**, telles que les maladies inflammatoires, auto-immunes, métaboliques, néoplasiques et neurodégénératives, récemment associées à **une dysbiose intestinale** (modifications de la composition et du fonctionnement du microbiome intestinal).



Certaines conditions de santé qui peuvent être directement liées à l'équilibre des bactéries dans le corps humain:

- obésité,
- diabète de type 1,
- l'asthme infantile,
- maladie inflammatoire de l'intestin,
- cancer colorectal,
- maladie cardiovasculaire,
- immunodéficiência,
- anxiété,
- infections respiratoires



Janoff, Edward N., Claire Gustafson, and Daniel Frank. "The world within: living with our microbial guests and guides." *Translational Research* (2012).



Le rôle potentiel du microbiote intestinal dans les troubles psychiatriques majeurs : mécanismes, données fondamentales, comorbidités gastro-intestinales et options thérapeutiques

Guillaume Fond¹, Grégoire Chevalier², Gerard Eberl², Marion Leboyer¹

Presse Med. 2016; 45: 7–19

Effects of the gut microbiota on bone mass

Claes Ohlsson and Klara Sjögren

Trends Endocrin Metabolism 2014;

Toward Effective Probiotics for Autism and Other Neurodevelopmental Disorders

Jack A. Gilbert,^{1,2} Rosa Kraimalik-Brown,^{3,4} Dorota L. Porazinska,⁵ Sophie J. Weiss,⁵ and Rob Knight⁴

Cell 2013;155: 1446

Cancer and the gut microbiota: An unexpected link

Laurence Zitvogel,^{1,2*†} Lorenzo Galluzzi,^{1,3,4,5*} Sophie Viaud,^{1,2} Marie Vétizou,^{1,2} Romain Daillère,^{1,2} Miriam Merad,⁶ Guido Kroemer³

Sci Trans Med 2015;7: 271ps1

Gut bacterial microbiota and obesity

M. Million¹, J.-C. Lagier¹, D. Yahav² and M. Paul²

Clin Microbiol Infect 2013;19: 305



Le microbiote, un nouveau facteur de risque cardiovasculaire ?

Caroline Chong-Nguyen¹, Henri Duboc², Harry Sokol³

Presse Med. 2017; 46: 708–713

The influence of the microbiota on the immune response to transplantation

Caroline Bartman^{a,b}, Anita S. Chong^c, and Maria-Luisa Alegre^d

Curr Opin Organ Transplant 2015;20:1

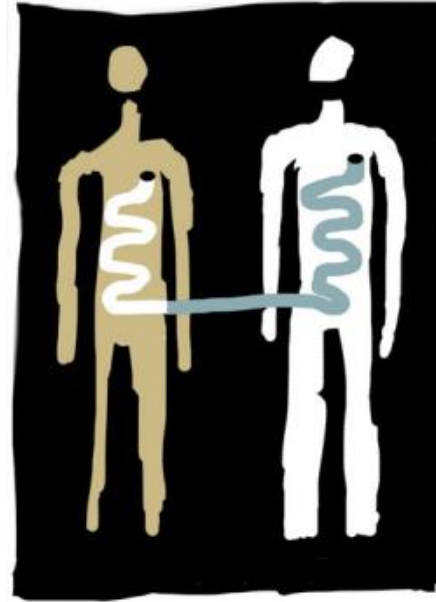
The mosquito microbiota influences vector competence for human pathogens

Nathan J Dennison, Natapong Jupatanakul and George Dimopoulos

Curr Opin Insect Sci 2014;3: 6

Fecal Microbiota Transplantation: A Practical Update for the Infectious Disease Specialist

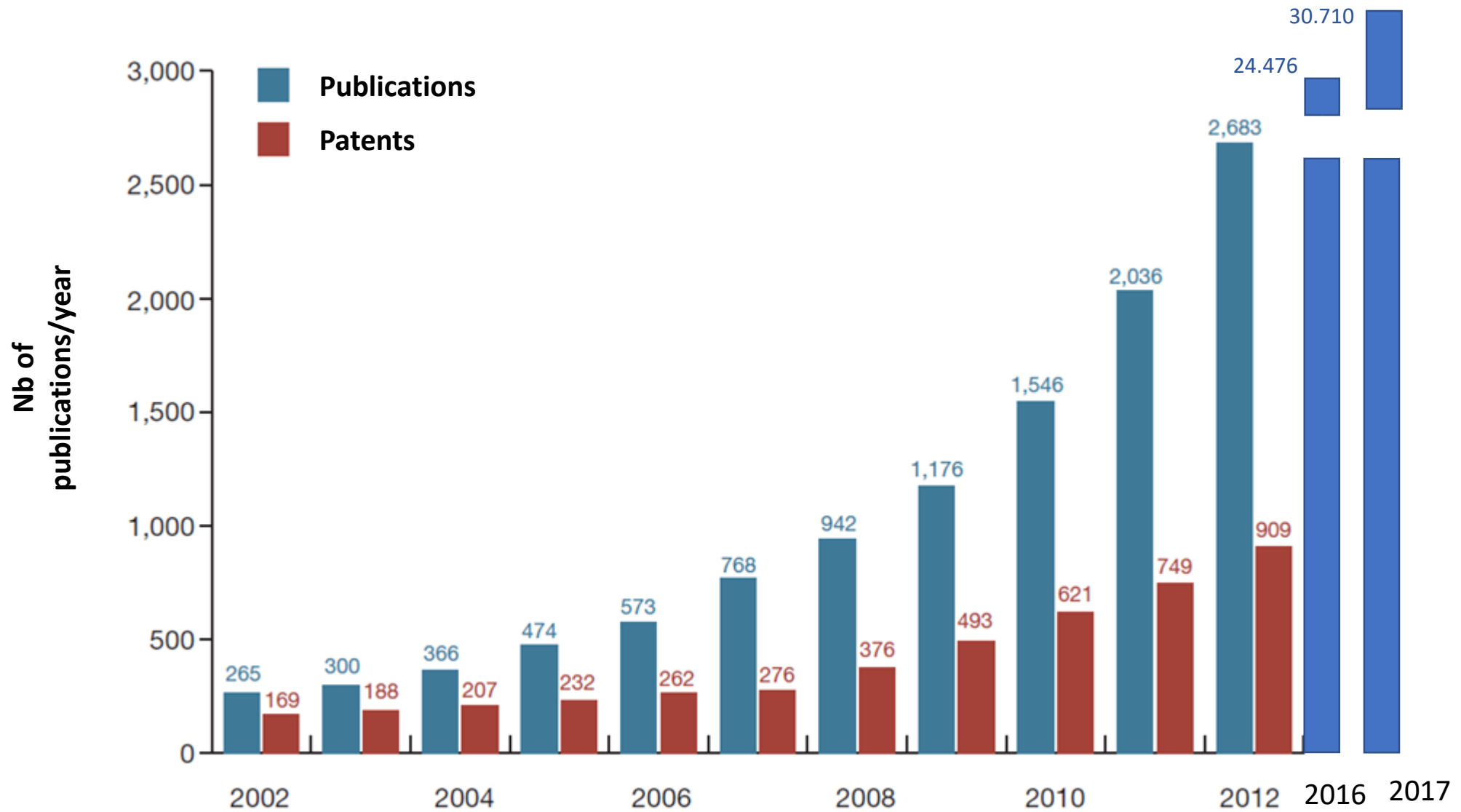
Thomas Moore,¹ Andres Rodriguez,² and Johan S. Bakken³



Clin Infect Dis 2014;58: 541

Transplantation de microbiote fécal: de la théorie à la pratique

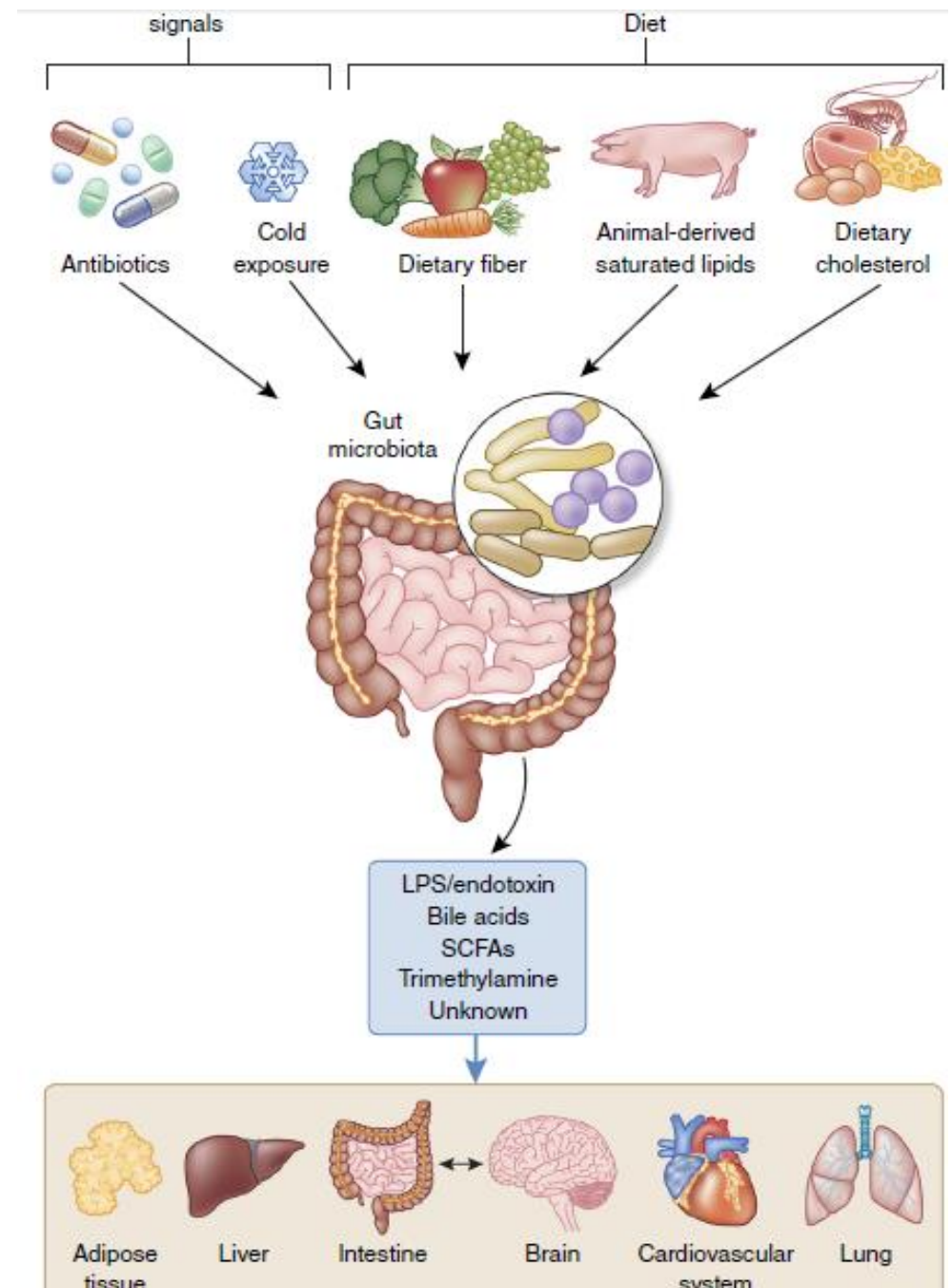
| Le microbiote intestinal: un nouvel organe



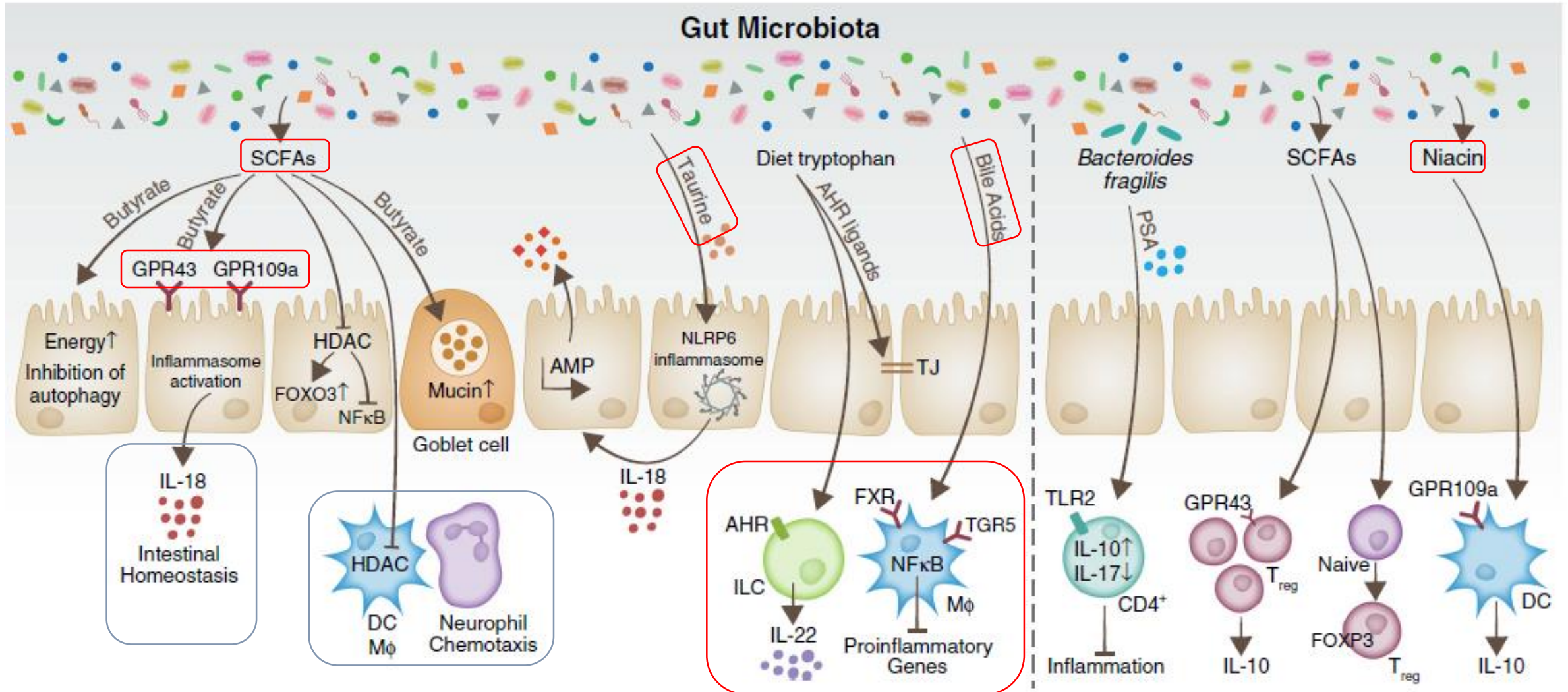
Recherche dans le PubMed avec le mot clé: «*Microbiota*»

Comment le microbiote influence notre différents systèmes?

- Le microbiote intestinal convertit les signaux environnementaux et les molécules alimentaires en **métabolites de signalisation** pour communiquer avec l'hôte
- Les altérations de la composition, de la diversité et des métabolites dérivés du microbiote intestinal sont associées à des maladies affectant différents organes du corps humain



Modulation de la signalisation immunitaire à travers les métabolites microbiens

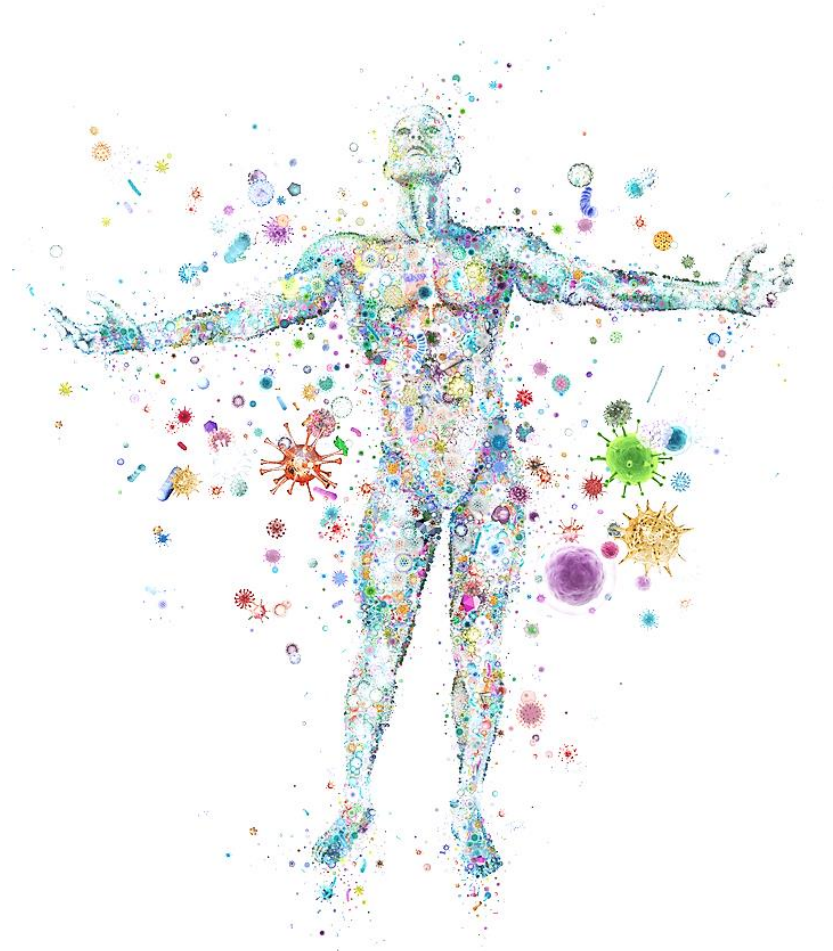


Les fonctions du microbiote

Metabolique

Structurel et
Developmental

Immunologique



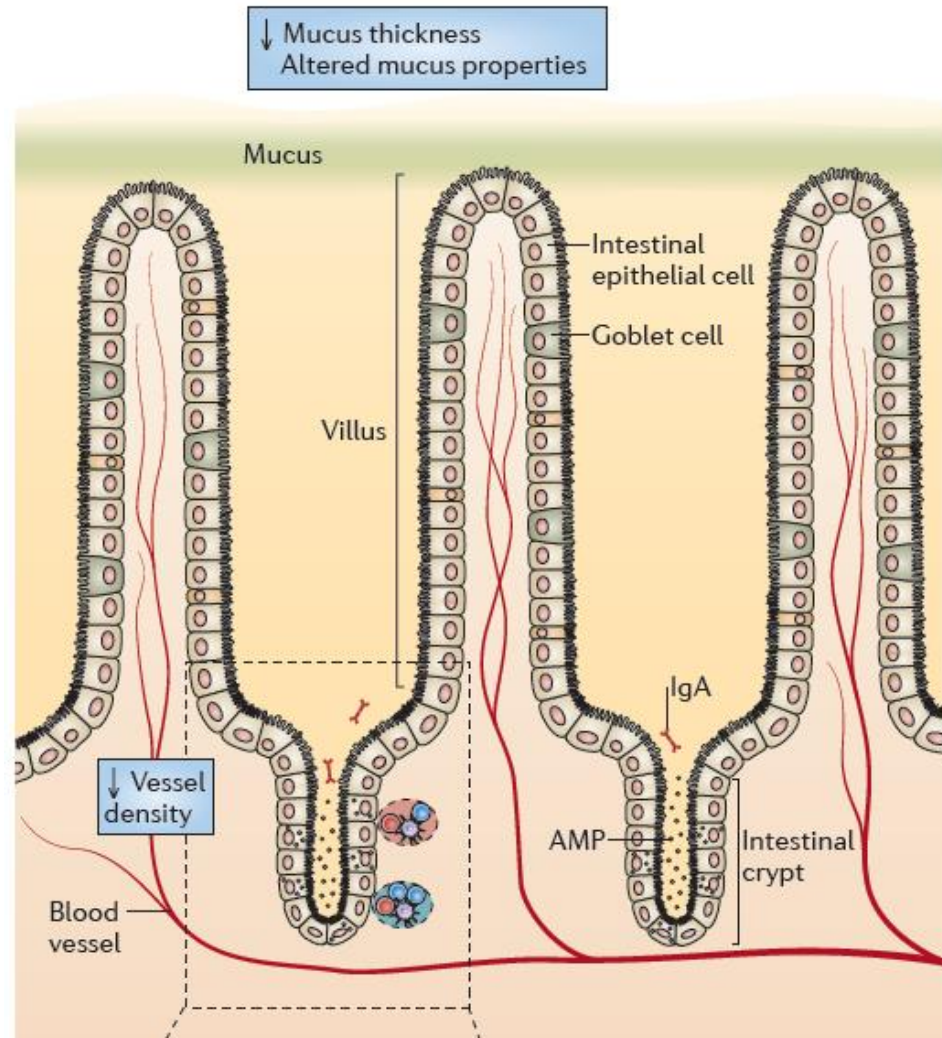
Influence du microbiome intestinal : une grande variété de fonctions du système immunitaire



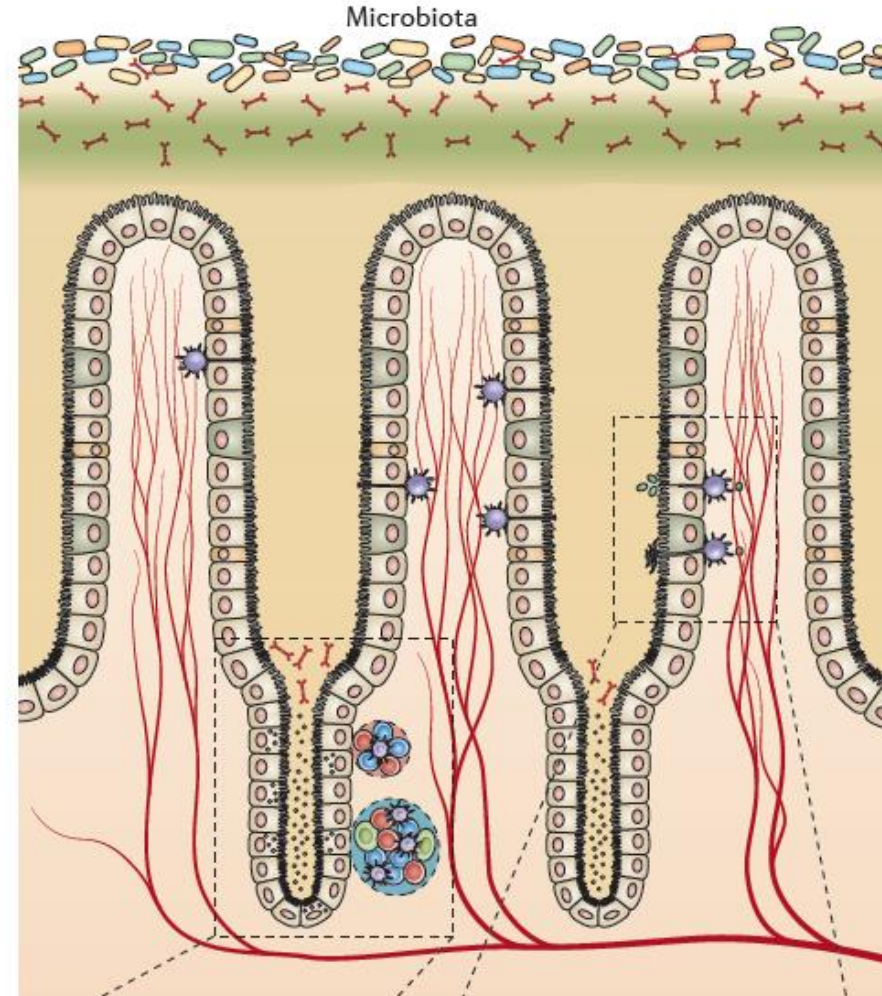
- Développement / maturation du système immunitaire
- Effet barrière
- Régulation de la réponse immunitaire
 - * Immunité innée
 - * Immunité adaptative

Maturation induite du tractus gastro-intestinal par le microbiote

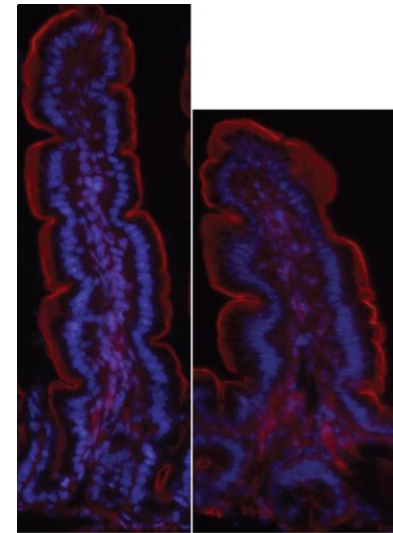
a Germ-free mice



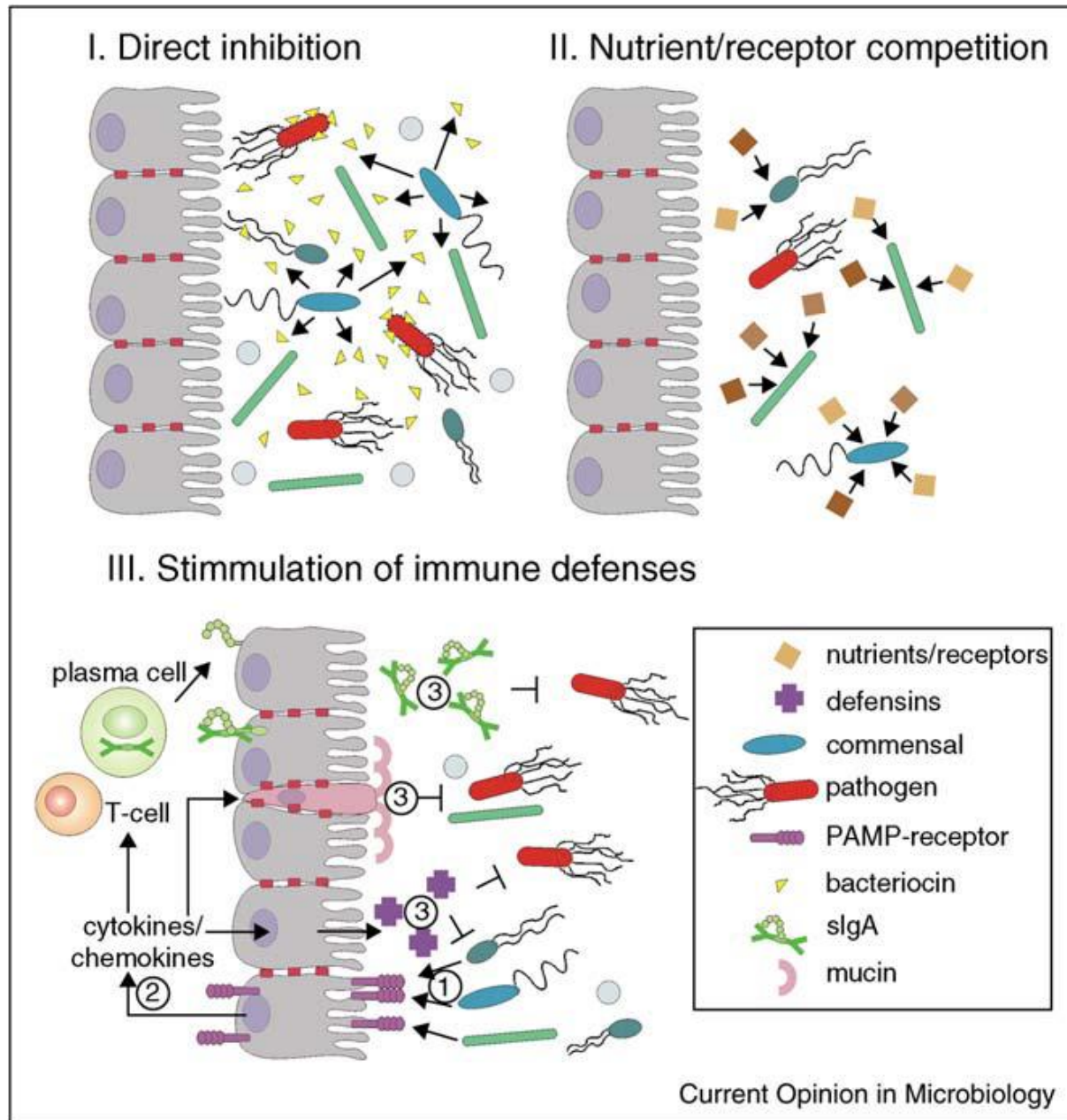
Conventionally raised mice



Morphology of intestinal villus



Bäckhed F, 2012



Relation entre le microbiote et les pathogènes

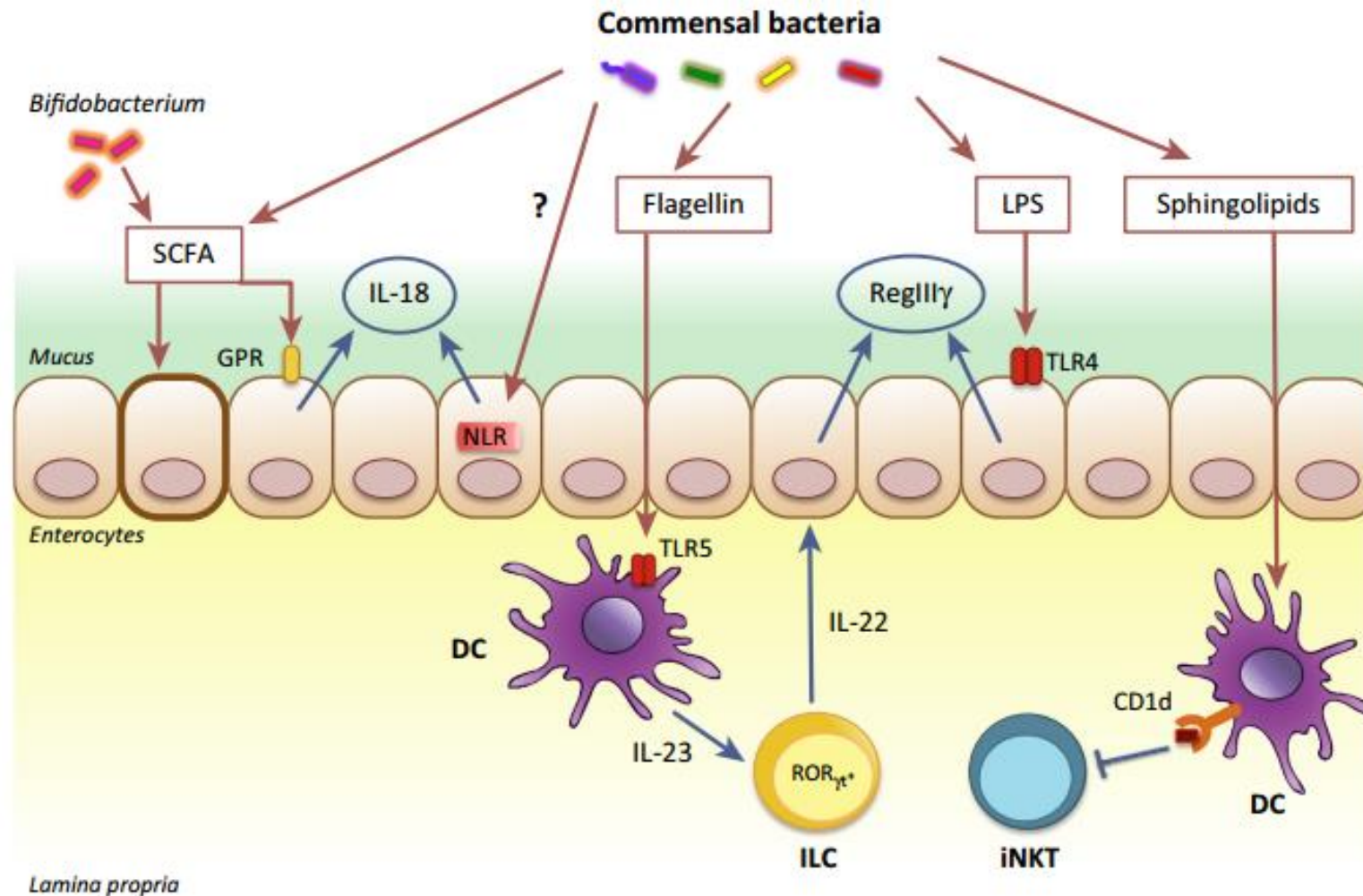
- Compétition pour les nutriments et les sites d'adhérence épithéliaux entre pathogènes et bactéries commensales
- Production des bactériocines et des peptides antimicrobiens par les cellules épithéliales
- Production des IgA sécrétoires etc..

Influence du microbiome intestinal : une grande variété de fonctions du système immunitaire

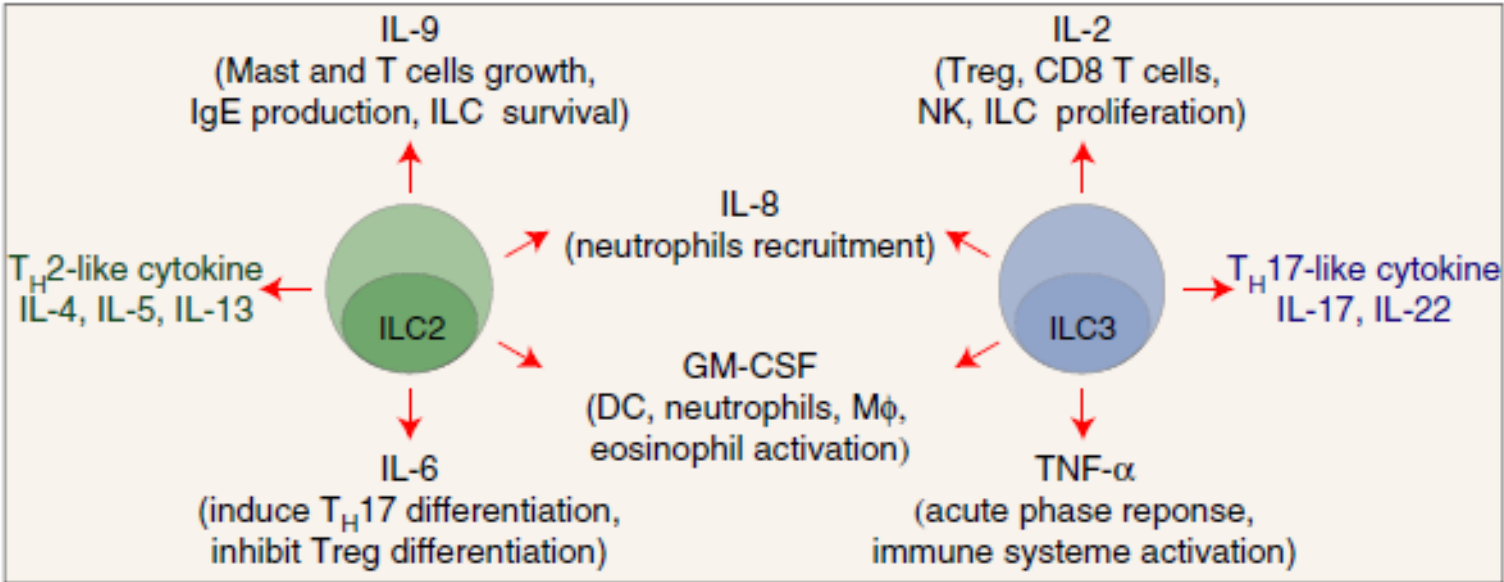
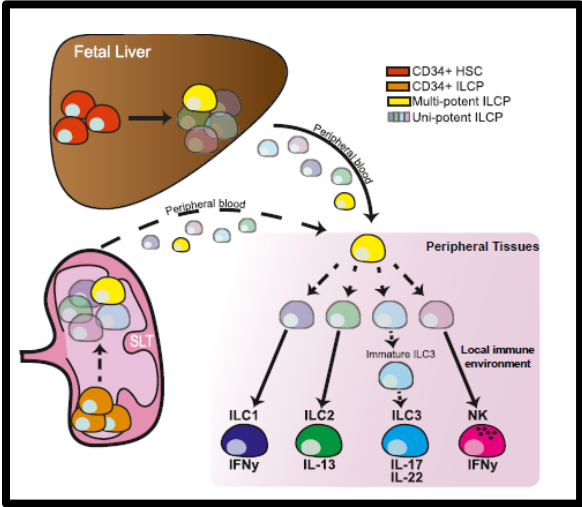


- Développement / maturation du système immunitaire
- Effet barrière
- Régulation de la réponse immunitaire
 - * **Immunité innée**
 - * Immunité adaptative

Régulation de la réponse immunitaire innée par le microbiote



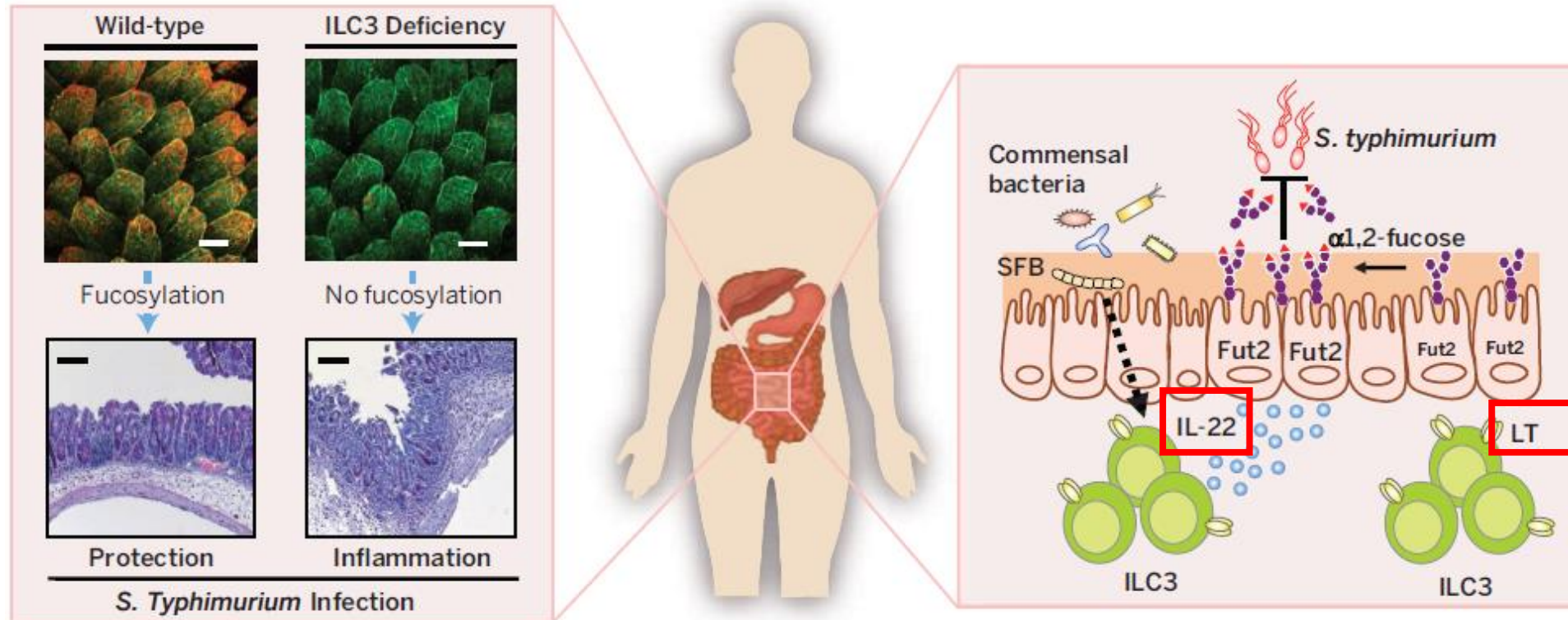
Les cellules lymphoïdes innées (CLI) jouent un rôle régulateur dans le remodelage tissulaire



Regulation de la glycosylation membranaire de cellules épithéliales par les CLI3

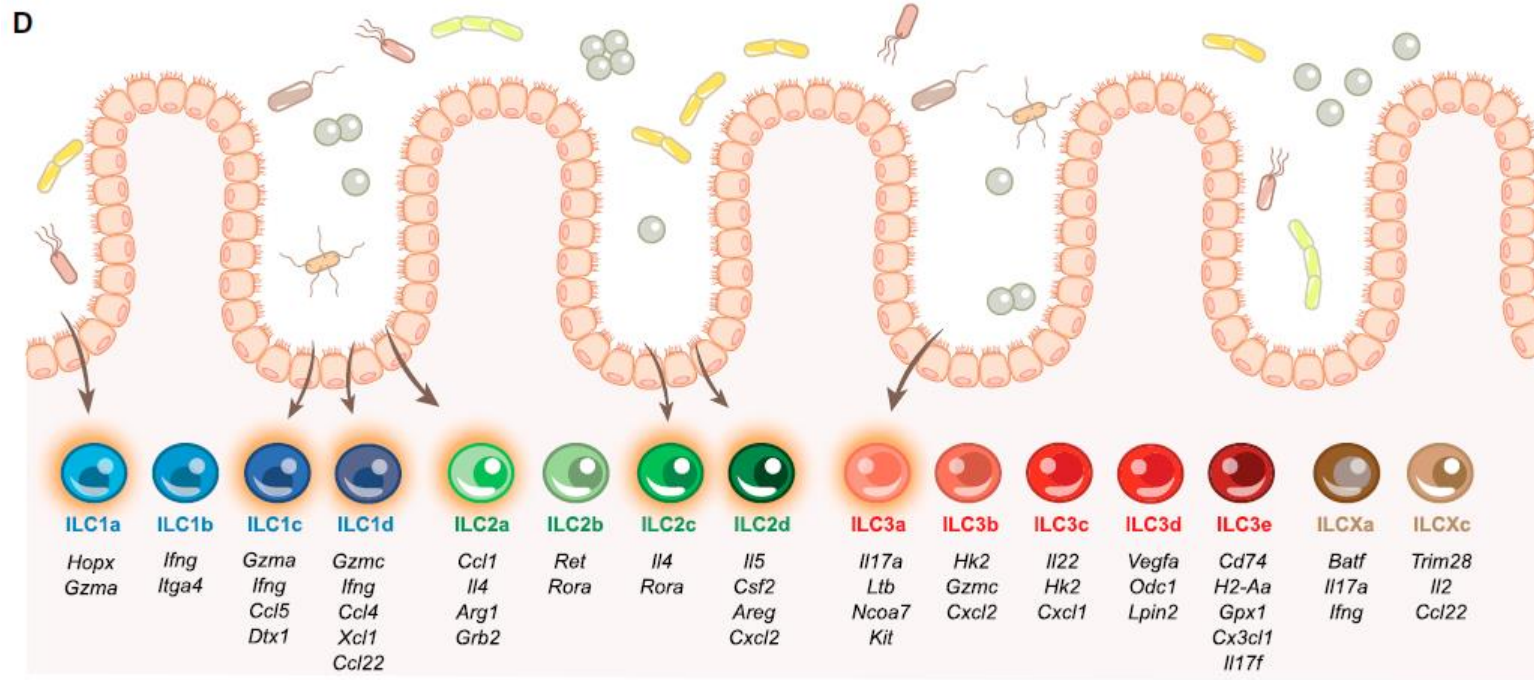


Bactéries filamenteuses segmentées

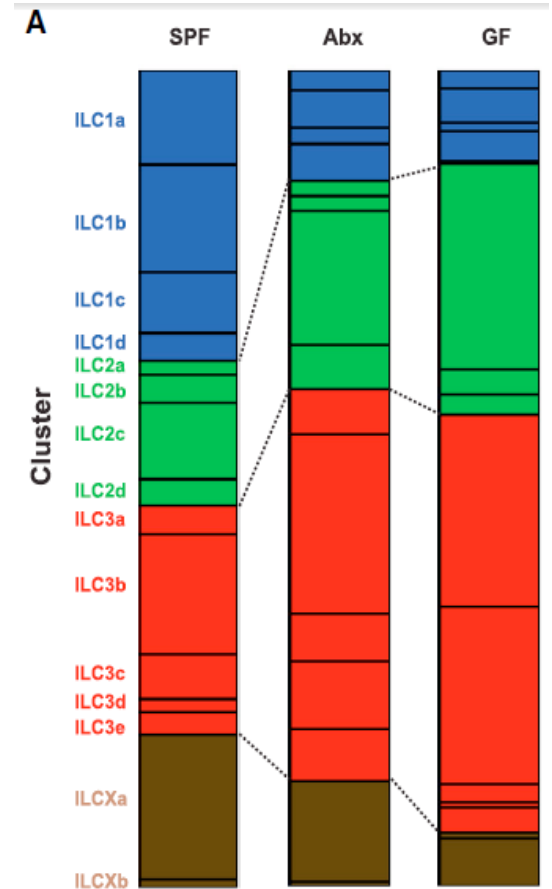


(Fut2: fucosyltransferase 2)

Certaines études suggèrent que le développement et la fonction des ILC dépendent de la colonisation du tube digestif par le microbiote intestinal



In the case of altered microbiota in mice, the proportion of ILCs subsets change

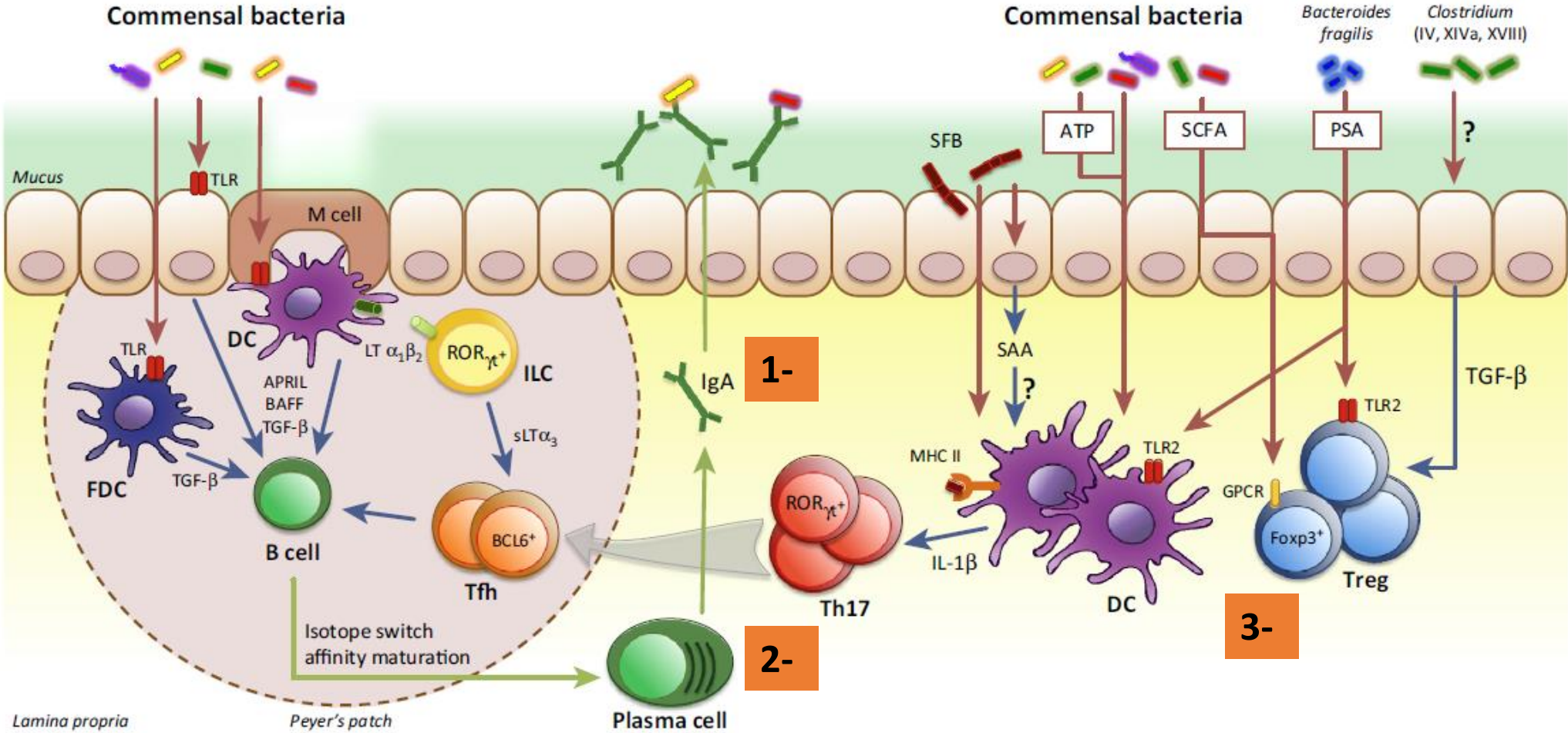


Influence du microbiome intestinal : une grande variété de fonctions du système immunitaire

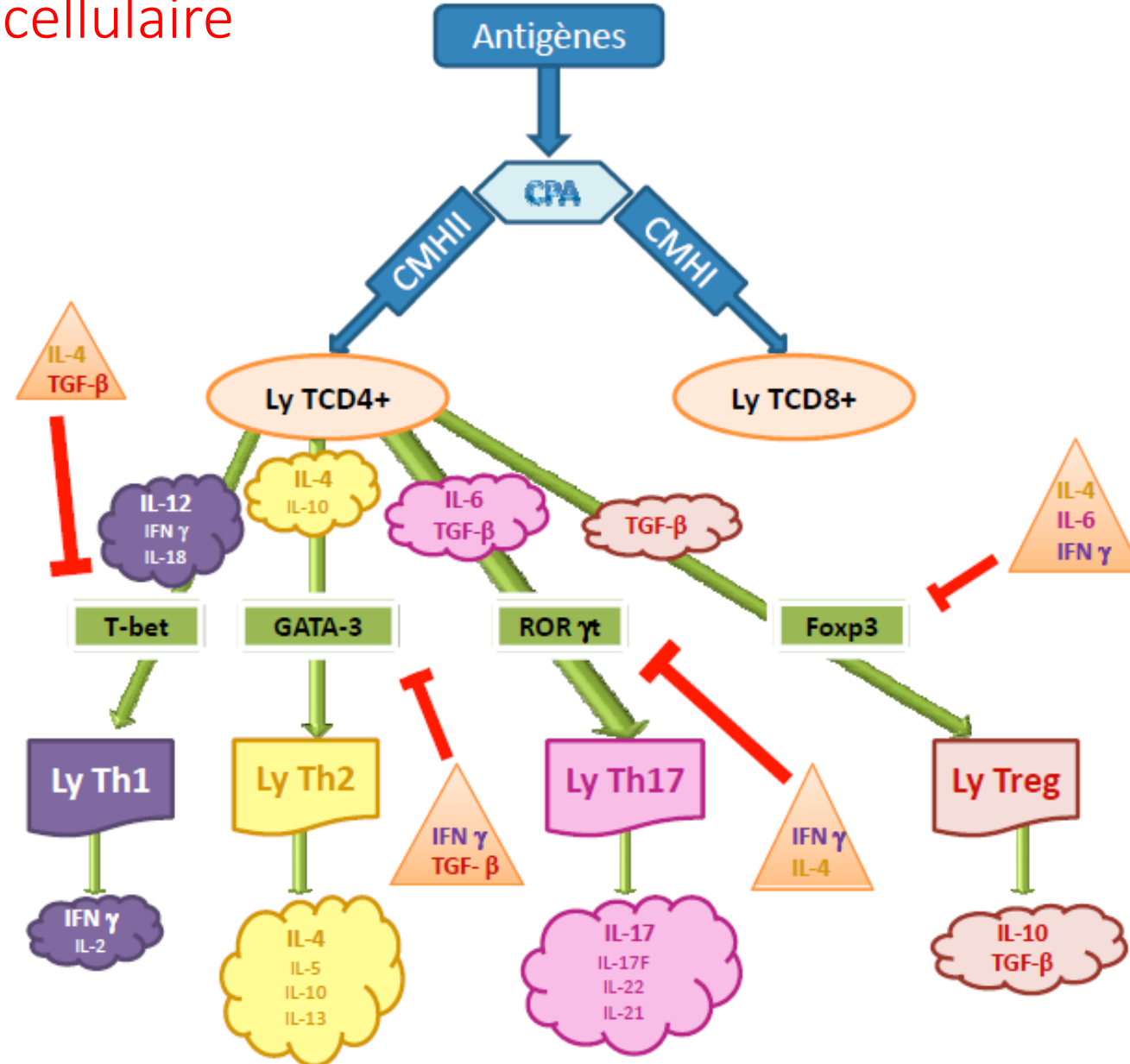


- Développement / maturation du système immunitaire
- Effet barrière
- Régulation de la réponse immunitaire
 - * Immunité innée
 - * Immunité adaptative

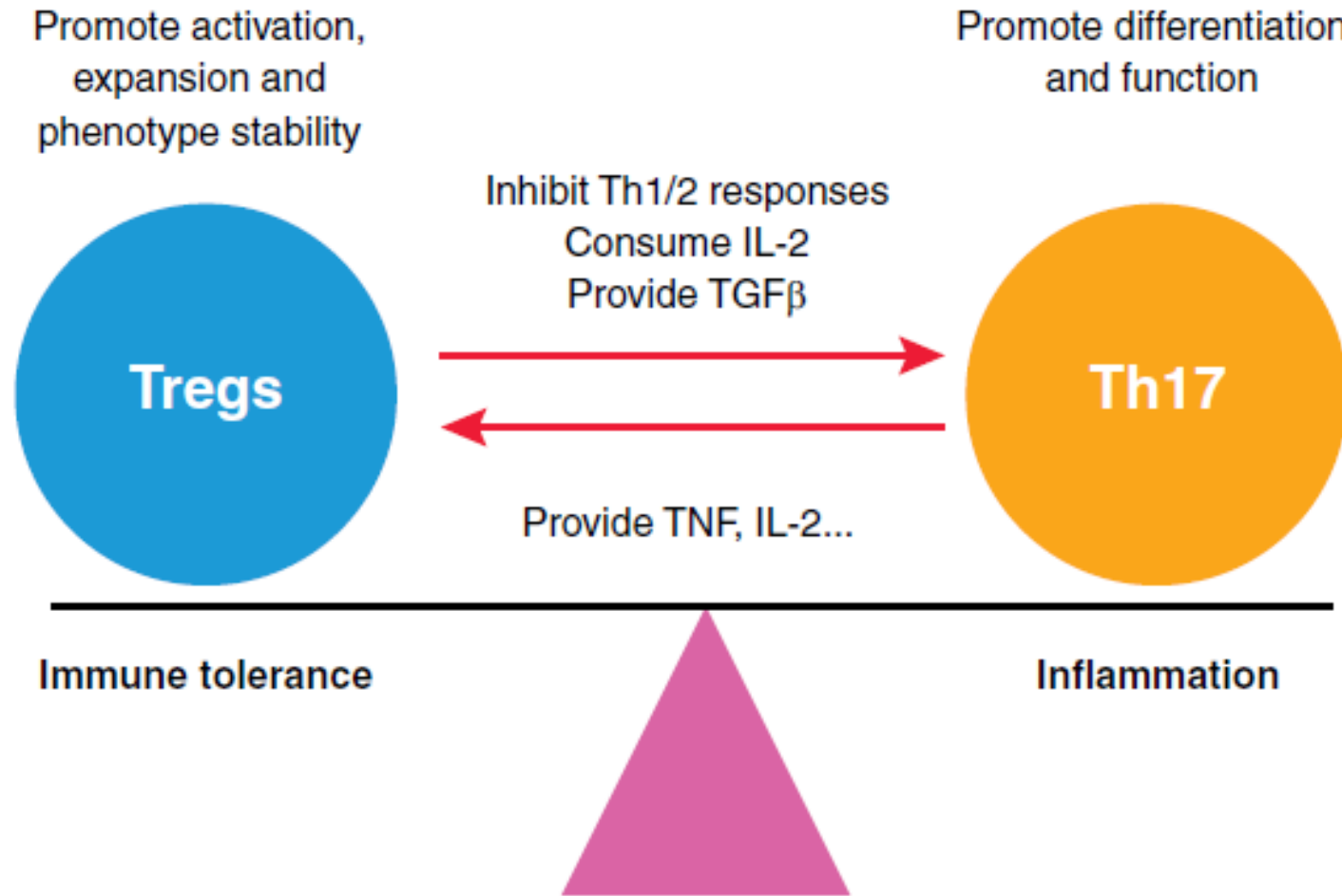
Régulation de la réponse immunitaire adaptative par le microbiome



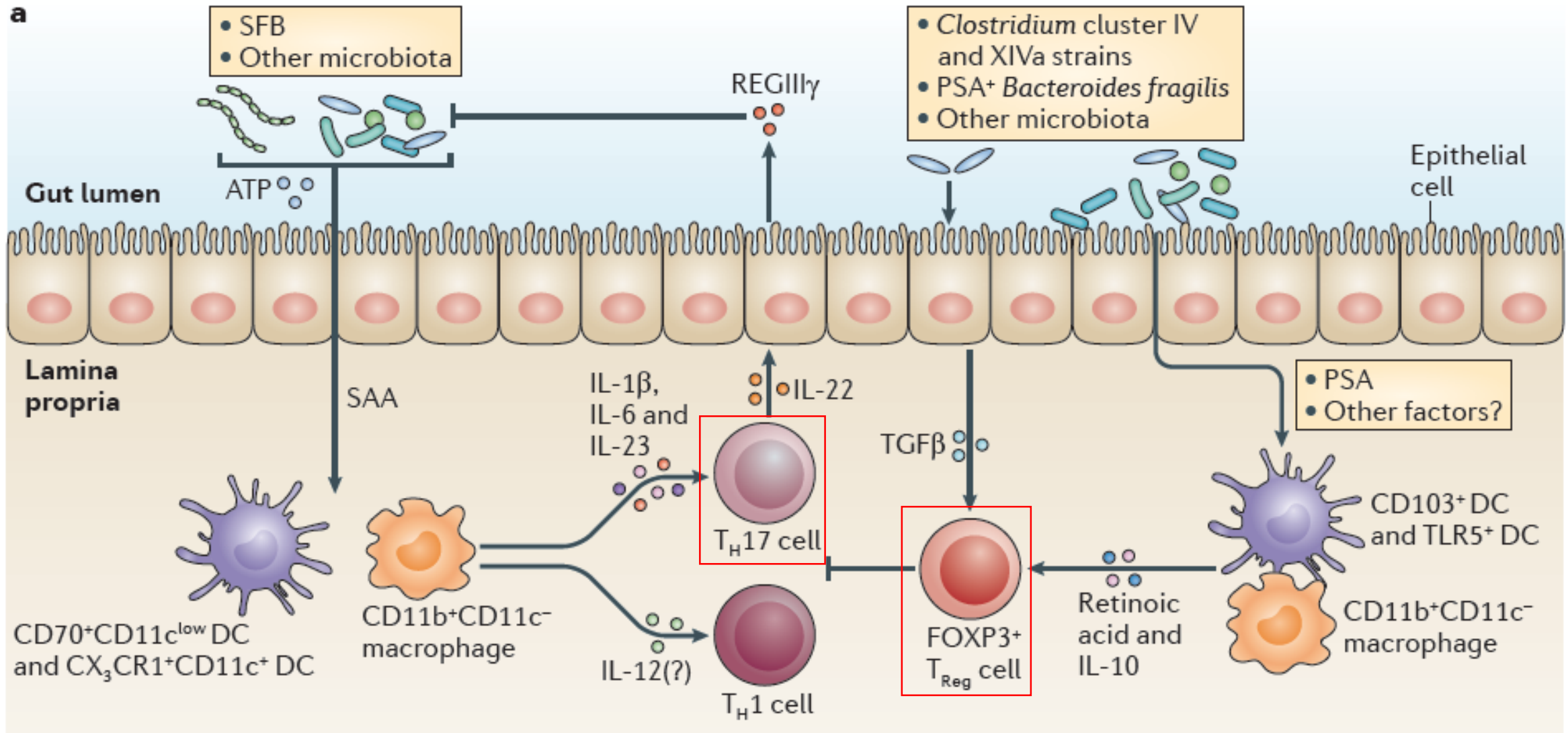
Les principales voies d'activation lors de la mise en place d'une réponse immune de type cellulaire



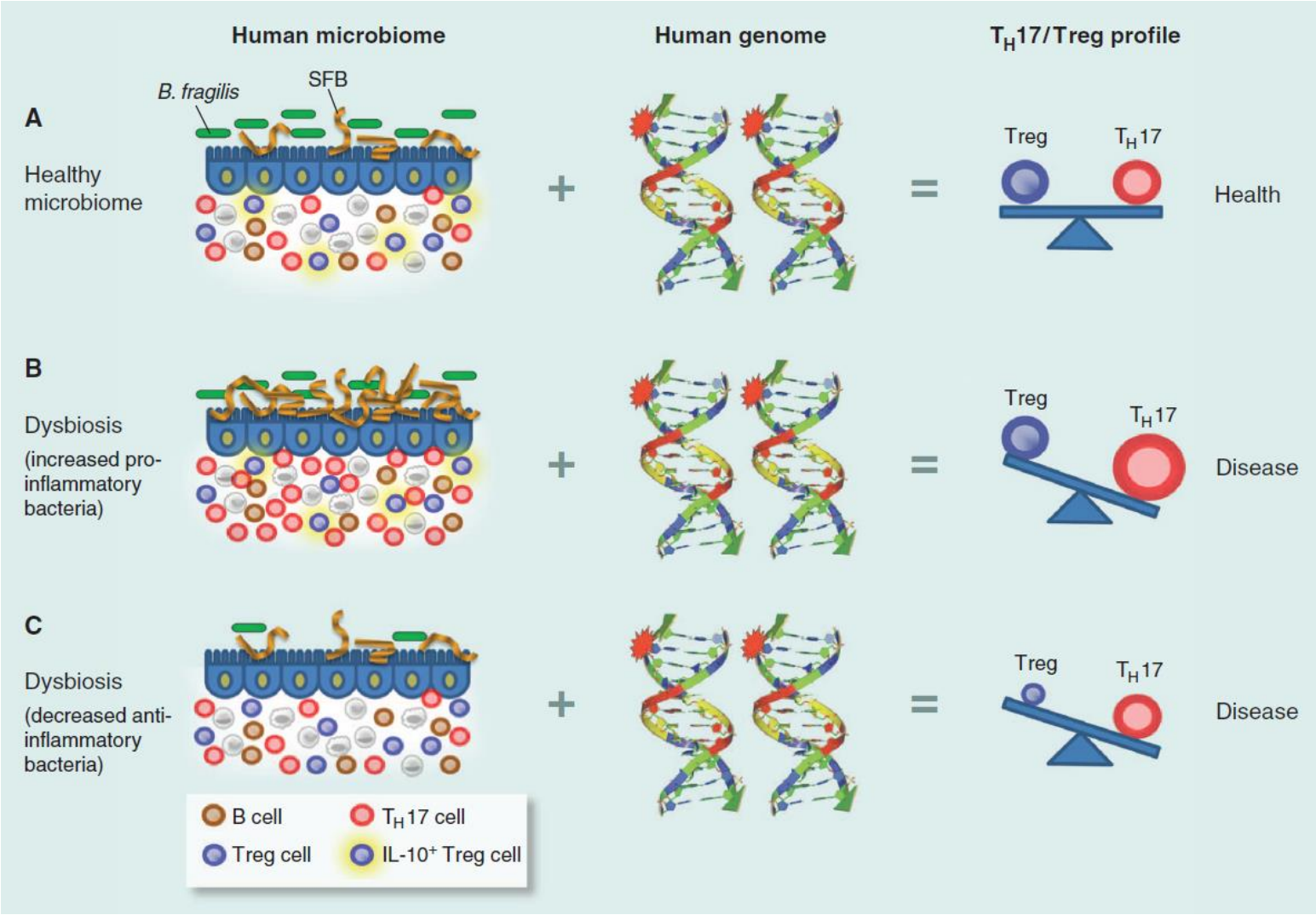
Les cellules Th17 et les cellules Treg dont le développement est interconnecté ont un rôle totalement opposé



Influence du microbiote sur les cellules Th17 & Treg dans l'intestin



Le microbiome et le génome humain contribuent aux maladies inflammatoires



Le microbiote et la réponse vaccinale...

- Les souris sans germes ou traitées par antibiotiques présentent des anomalies de la réponse immunitaire; lorsque leur microbiome est restauré, leur réponse sera récupérée
- Le microbiome affecte la réponse immunitaire innée & adaptative
- En raison de son impact sur la réponse immunitaire, **il est raisonnable de considérer que le microbiote affectera de manière significative la façon dont les individus réagissent aux antigènes vaccinaux ...**

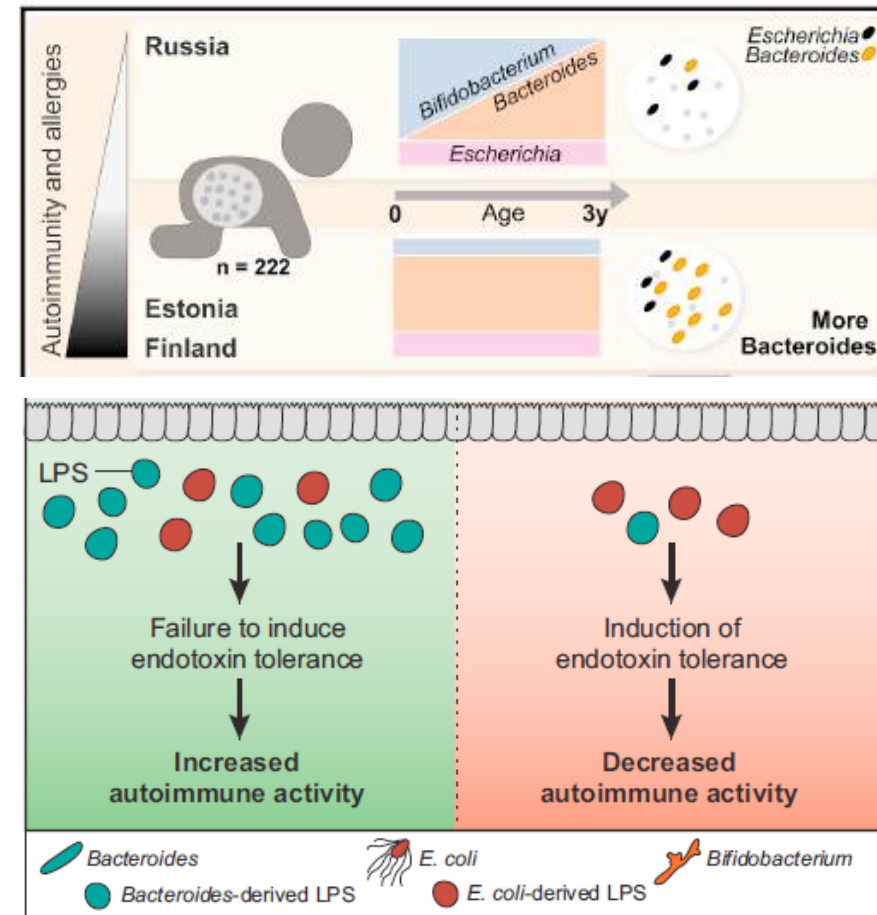
Variation in Microbiome LPS Immunogenicity Contributes to Autoimmunity in Humans

- Le contenu du microbiome intestinal a été étudié chez des enfants de la Finlande, d'Estonie (les maladies auto-immunes sont fréquentes) et de Russie (moins prévalent)

- Les espèces de **Bacteroides** sont faibles chez les Russes, mais dominant chez les enfants Finlandais et Estoniens

- **LPS des Bacteroides** inhibe la signalisation immunitaire innée

Tommi Vatanen, Aleksandar D. Kostic, Eva d'Hennezel, ..., Thomas W. Cullen, Mikael Knip, Ramnik J. Xavier

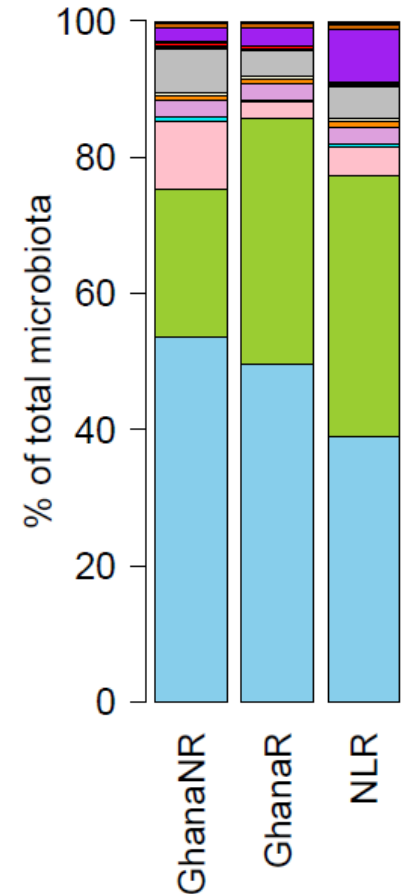


1-

Significant Correlation Between the Infant Gut Microbiome and Rotavirus Vaccine Response in Rural Ghana

Vanessa C. Harris,^{1,2} George Armah,⁵ Susana Fuentes,³ Katri E. Korpela,⁶ Umesh Parashar,⁷ John C. Victor,⁸ Jacqueline Tate,⁷ Carolina de Weerth,⁴ Carlo Giaquinto,⁹ Willem Joost Wiersinga,² Kristen D. C. Lewis,^{2,a} and Willem M. de Vos^{3,6}

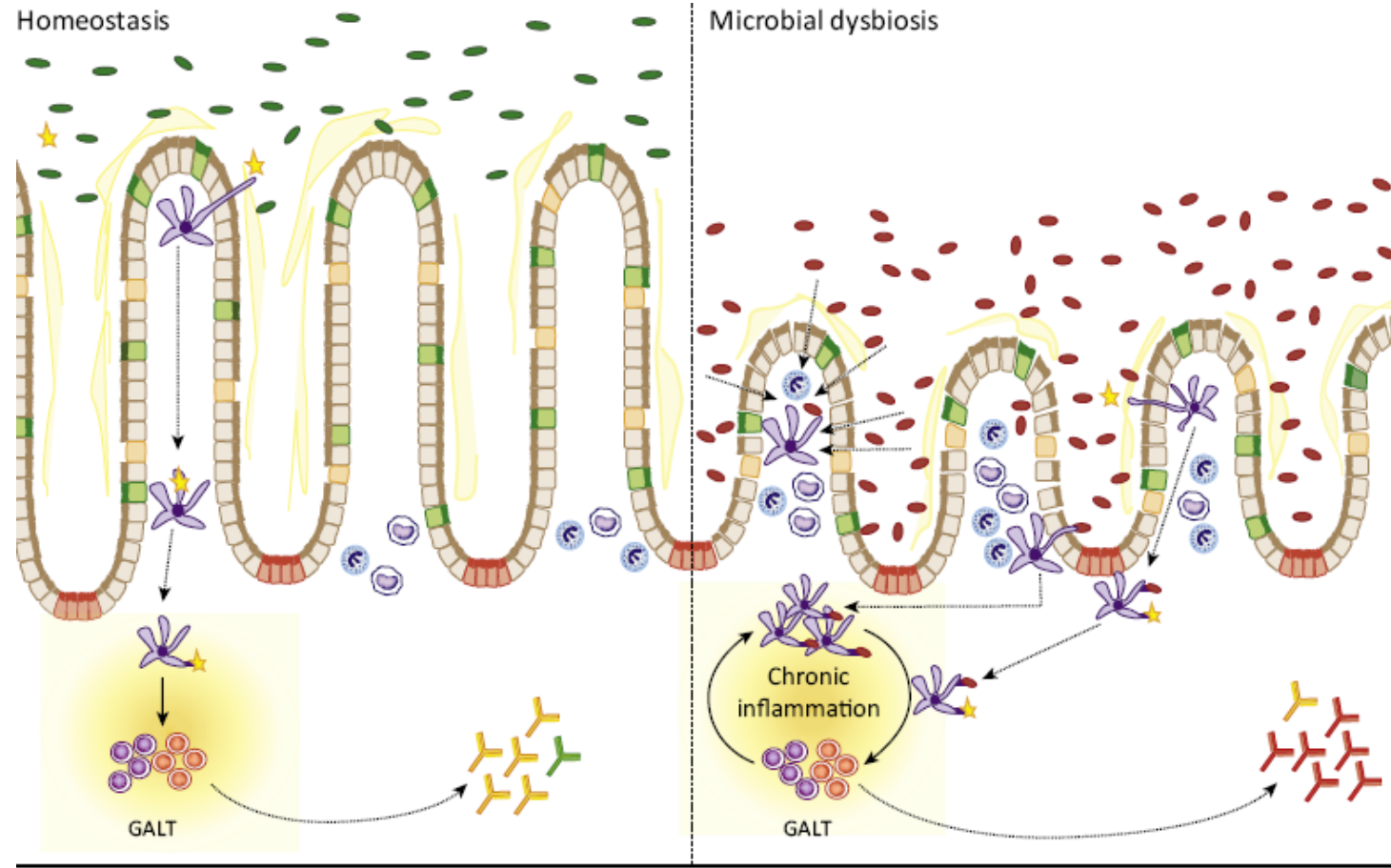
- Différence dans la composition du microbiote entre les nourrissons Ghanéens séroconvertis après VRV et ceux qui ne l'ont pas fait, et comparés avec le microbiote d'enfants Hollandais non vaccinés
- Des différences significatives dans la composition du microbiote entre les répondeurs et les non-répondeurs
- Le microbiote du nourrisson Ghanéen répondeur:
 - Augmentation de **S. bovis**,
 - Diminution du **phylum Bacteroidetes**



2-

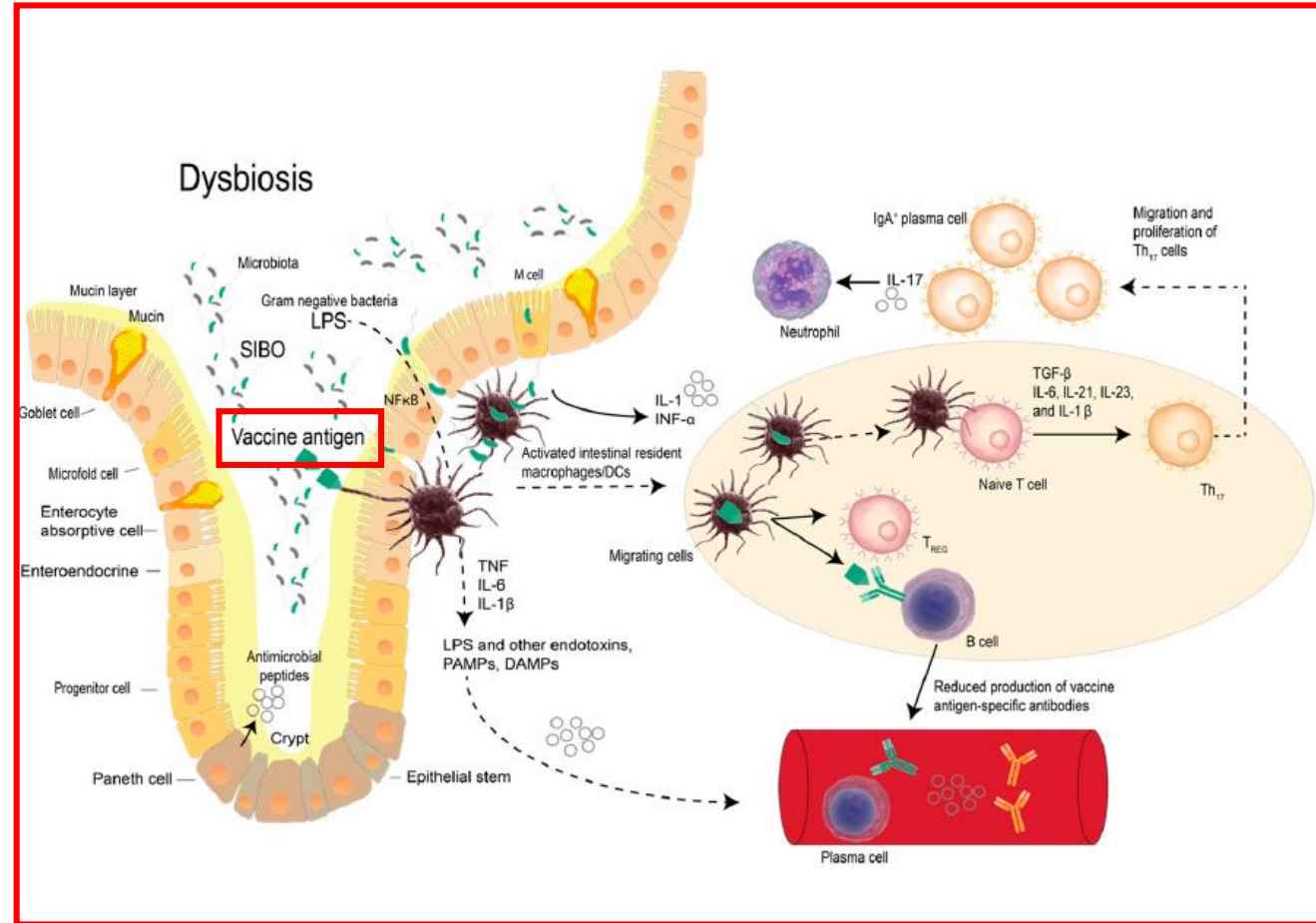
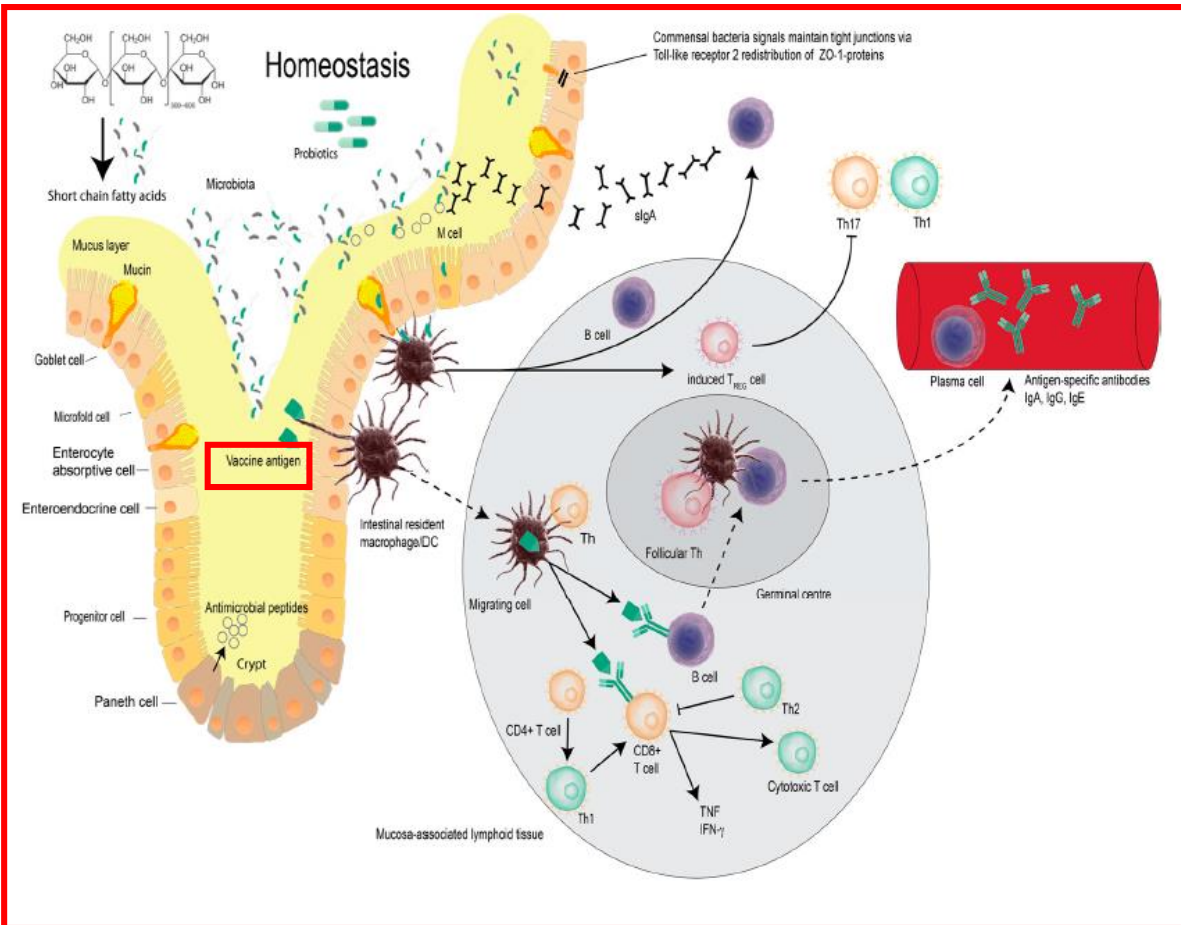
Influence of the microbiota on vaccine effectiveness

Yanet Valdez¹, Eric M. Brown^{1,2}, and B. Brett Finlay^{1,2,3}



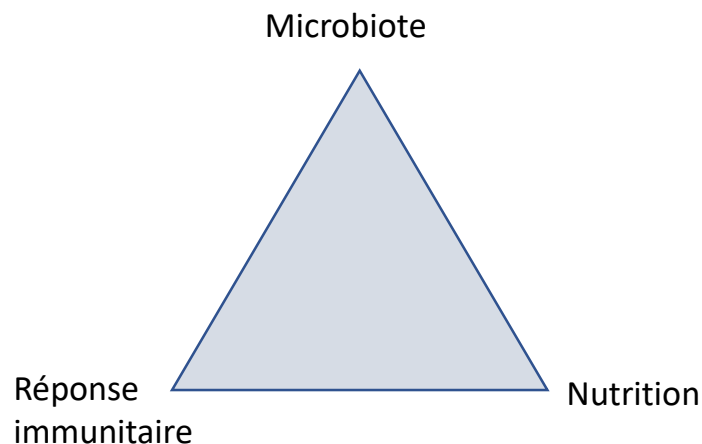
Key: Enterocyte Paneth cell Neutrophil B cell Dendritic cell Microbe-specific antibody Mucus
 Goblet cell Microfold cell Monocyte T cell Vaccine antigen Vaccine antigen-specific antibody Microbe

L'effet du microbiote aux réponses vaccinales



Impact du microbiote sur la fonction immunitaire ➡ Il est raisonnable de s'attendre à ce qu'il influence également la réponse aux vaccins

- 1-** Les bactéries exprimant la forme inhibitrice du LPS pourraient avoir une réponse immunitaire faible aux vaccins oraux



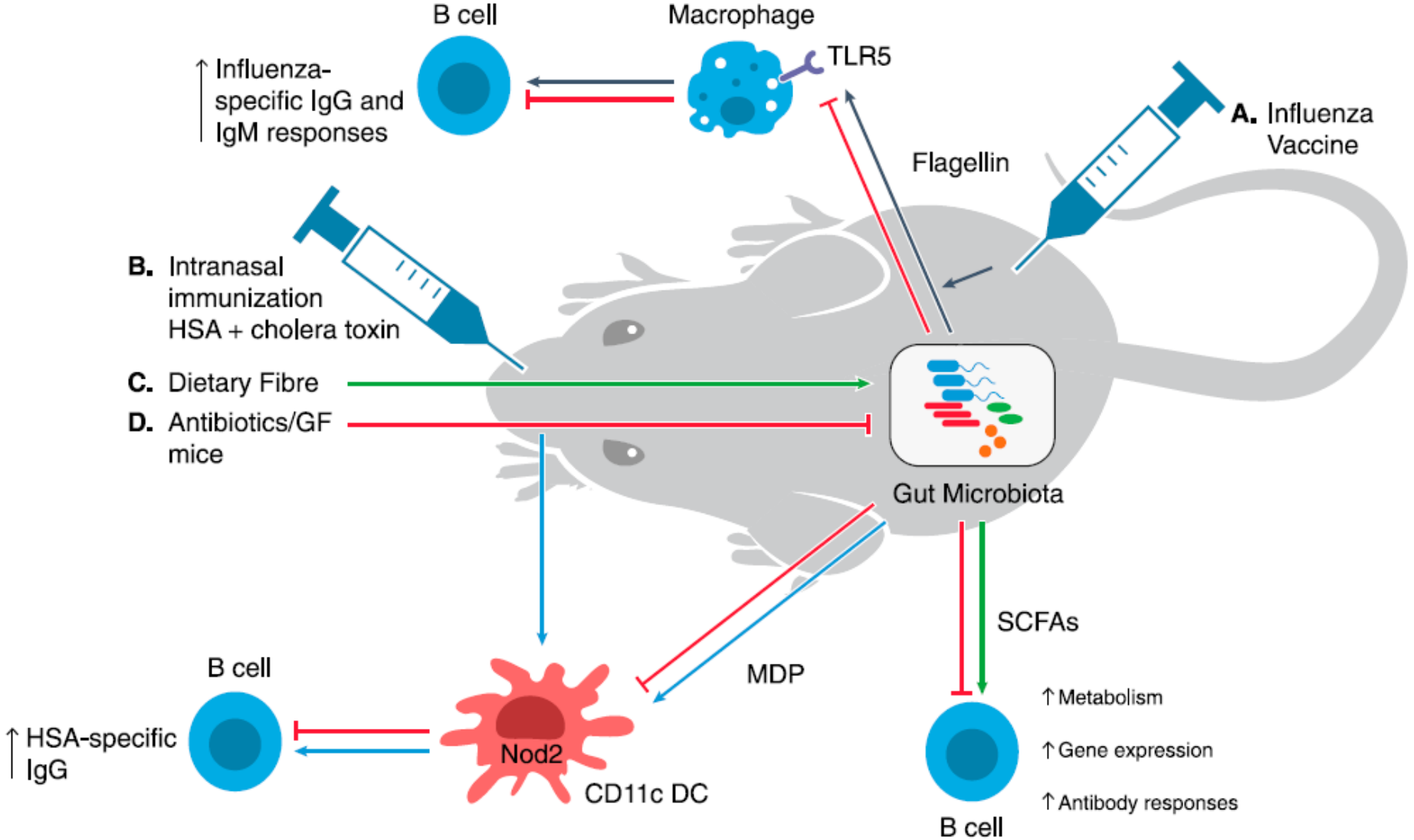
- 2-** Conditions sanitaires faibles

↓
«*Environmental enteropathy*»

↓
Conditions inflammatoires

↓
A force de «s'occuper» des membres du microbiote, le système immunitaire n'a pas «le temps» pour s'occuper de l'immunogène du vaccin

Le microbiote de l'intestin influence des réponses d'anticorps à la vaccination / infection chez les souris



La relation entre la modulation du microbiote intestinal et la régulation de l'immunité de l'hôte par les probiotiques

- Le traitement probiotique a augmenté la fréquence de la muqueuse et des cellules B exprimant les IgA
- La supplémentation en probiotiques entraîne une augmentation significative des taux de séroconversion après la vaccination anti-RV (Finlande)
- Une supplémentation en probiotiques + zinc entraîne une augmentation de la séroconversion IgA après vaccination par RV (Inde)

Study	N	Age group	Vaccine	Probiotic strain(s)	Dose	Titer	Seroconversion (%)
Youngster [31]	47	Infants	Mumps, measles, R, V	<i>L. acidophilus</i> , <i>B. bifum</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. infantis</i>	3×10^9 each	n.s.	92% vs 83%, $p = 0.052$
Kukkonen [35]	87	Infants	DTP Hib	<i>L. rhamnosus</i> (2 strains), <i>B. breve</i> , <i>P. freudenrichi</i>	$2-5 \times 10^9$ each	n.s.	-
Soh [38]	202	Infants	Hepatitis B	<i>B. longum</i> , <i>L. rhamnosus</i>	3×10^8	n.s.	n.s.
West [39]	179	Infants	DTP, oral polio, Hib	<i>L. paracasei</i>	10^8-10	n.s.	-
Matsuda [36]	128	Children <5 years	Cholera	<i>B. breve</i>	4×10^9	n.s.	$p < 0.05$
Pèrez [37]	140	9 months-10 years	Pn T	<i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i>	10^8 each	n.s.	-
De Vrese [41]	64	20-30 years	Oral polio	<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. acidophilus</i>	10^{10}	2-4x higher, $p < 0.05$	-
Davidson [40]	39	18-49 years	Influenza	<i>L. rhamnosus</i>	10^{10}		84% vs 55%, $p < 0.05$
Boge [42]	222	Elderly	Influenza	<i>L. casei</i>		$p < 0.05$	-

D, diphteria; HiB, *Haemophilus influenzae* type B; P, pertussis; Pn, pneumococcal; R, rubella; T, tetanus; and V, varicella.

Dernier mot:

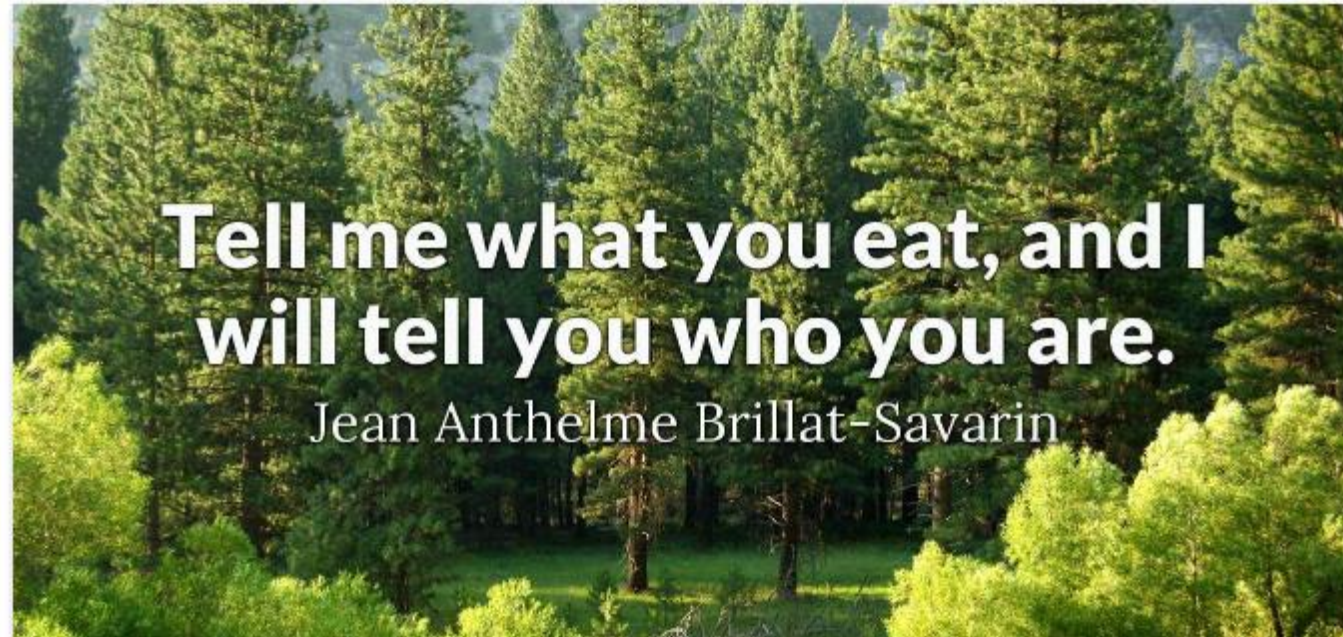
Microbiote influence / peut influencer la réponse vaccinale

- Les composants structuraux et les métabolites du microbiote agissent sur les:
 - * Cellules de l'immunité innée (myéloïdes, CLI...)
 - * Cellules immunitaires adaptatives
 - SFB / LPS / PSA
- Pourquoi pas la réponse vaccinale?
- On a de plus en plus de données qui vont dans ce sens..
- Le microbiote humain devrait-il être pris en compte lors du développement des vaccins?

Nikos Kazantzakis > Quotes > Quotable Quote



“Tell me what you do with the food you eat, and I'll tell you who you are. Some turn their food into fat and manure, some into work and good humor, and others, I'm told, into God. So there must be three sorts of men. I'm not one of the worst, boss, nor yet one of the best. I'm somewhere in between the two. What I eat I turn into work and good humor. That's not too bad, after all!”



**Tell me what you eat, and I
will tell you who you are.**

Jean Anthelme Brillat-Savarin